

**Variación fenotípica del comportamiento vegetativo, reproductivo y
germinativo de poblaciones de *Paspalum dilatatum* Poir.**

*Tesis presentada para optar al título de Magister Scientiae de la
Universidad de Buenos Aires.*

Área: Producción Vegetal

María Alejandra Blanco

Ingeniera Agrónoma, 1993.

Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.



Escuela para Graduados Alberto Soriano

Facultad de Agronomía-Universidad de Buenos Aires.

Comité Consejero

Consejero Principal:
Gustavo Enrique Schrauf
Ingeniero Agrónomo (U.N.R.)
MSc. (U.N.R.)
Dr. (UBA)

Consejero:
Norberto Bartoloni
Ingeniero Agrónomo (U.B.A.)
Mg.Sc. (U.B.A.)

JURADO DE TESIS

Director de tesis
Gustavo Enrique Schrauf
Ingeniero Agrónomo (U.N.R.)
MSc. (U.N.R.)
Dr. (UBA)

JURADO
Agustín Grimoldi
Ing. Agr. (U.B.A.)
M. Sc. Recursos Naturales (U.B.A.)
Dr. Sc. Agrarias (Technische Universität München, Alemania)

JURADO
Carlos Omar Gosparini
Ing. Agr. (U.N.R.)
Dr. (U.N.R.)

Fecha de defensa de la tesis: 08 de abril de 2015

Agradecimientos

Quiero agradecer profundamente a Gustavo Schrauf, que además de ser mi mentor, le agradezco el no haber perdido nunca la fe en mi trabajo, fe que le permitió transmitirme confianza, ha sido además de un director un amigo en todas las circunstancias. También quiero agradecer a su hijo, Matías Schrauf, por su invaluable soporte estadístico, quien puso a mi disposición sus conocimientos desinteresadamente con excelente aplicación.

Y por último, pero no menos importante, agradezco a Juan, quien siempre y cada día de nuestra convivencia me recordaba que tenía una asignatura pendiente y también agradezco los tiempos de mi hija, esta tesis ha atravesado su vida. A ellos dos, Juan y Clara, muchas gracias por el amor y el soporte constante.

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.

INDICE

Índice.....	Pag I
Índice de Tablas.....	Pag III
Índice de Figuras.....	Pag. IV
Abreviaturas.....	Pag VII
Resumen.....	Pag IX

Capítulo 1: Variación fenotípica del comportamiento vegetativo, reproductivo y Germinativo de poblaciones de Paspalum dilatatum Poir.

- I. Introducción General.....Pag.1

Capítulo 2: Variación en el comportamiento germinativo en respuesta a ambiente materno, origen, condiciones de pre-incubación e incubación.....Pag.7

- 2.I. Introducción:.....Pag.7
- 2.I.a) Ambiente materno:.....Pag.7
- 2.I.b) Preimbibición y temperatura sobre orígenes poblacionales:.....Pag.9
- 2.II. Materiales y Metodología:.....Pag.11
- 2.II.i) Incubación a temperatura constante y temperatura y luz alternas.....Pag.12
- 2.II.ii) Análisis estadístico.....Pag.13
- 2.III. Resultados:.....Pag.17
- 2.III.i) Incubación a temperatura constante.....Pag.17
- 2.III.ii) Incubación a temperatura y luz alternas.....Pag.18
- 2.IV. Discusión:.....Pag.23

Capítulo 3: Variación de caracteres en las plantas adultas: esfuerzo y costo reproductivo, cambios en la asignación de recursos entre el compartimiento aéreo y radical.Pag.29

- 3.Introducción:.....Pag. 29
- 3.I.a) Esfuerzo reproductivo.....Pag. 29
- 3.I.b) Cambios en la asignación de recursos en los compartimientos aéreo y radical:.....Pag. 30
- 3.II. Materiales y Metodología:Pag. 32
- 3.III. Resultados:.....Pag. 34
- 3.III.a) Esfuerzo reproductivo:.....Pag. 35
- 3.III.b)Cambios en la asignación de recursos en los compartimientos aéreo y radical:.....Pag. 38
- 3. IV.Discusión:Pag. 47
- 3.IV.a. Esfuerzo reproductivo :.....Pag.47
- 3.IV.b.Cambios en la asignación de recursos en compartimiento aéreo y radical.Pag.49

Capítulo IV: Discusión general:.....Pag.53

Capítulo V: Bibliografía.....Pag. 59

INDICE DE TABLAS

Tabla 3.1: Análisis de Varianza de dos vías: dos tratamientos, disponibilidad hídrica con tres niveles (inundación, Capacidad de campo y sequía) y población con dos niveles (Loma y Bajo). Significancia al 1 % (**en negritas**), significancia al 5 % (***en italicas***).....Pag. 33

Tabla 5.1: Cuadro comparativo de las respuestas de las dos poblaciones en semilla, y en planta adulta (en estado reproductivo y vegetativo).....Pag. 58

INDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Representación gráfica del cociente entre la probabilidad de cada tratamiento (en el eje y están los distintos tratamientos) y la probabilidad promedio de todos los tratamientos, de semillas de *Paspalum dilatatum*, de las dos poblaciones, provenientes de tratamientos de ambiente materno, Capacidad de Campo (CC), Inundación (I) y Sequía (S), colocadas en cámaras de germinación a temperatura constante..... Pag. 17

Figura 2.2: Representación gráfica del cociente entre la probabilidad de cada tratamiento (en el eje y están los distintos tratamientos) y la probabilidad promedio de todos los tratamientos, de semillas de *Paspalum dilatatum*, de las dos poblaciones, provenientes de tratamientos de ambiente materno, Capacidad de Campo (CC), Inundación (I) y Sequía (S), colocadas en cámaras de germinación a 20-35°C, con luz alterna.....Pag.18

Figura 2.3: Representación gráfica de las Medias de los tiempos de Germinación de las semillas de *Paspalum dilatatum* Poir. Provenientes de las dos poblaciones estudiadas Loma (A) y Bajo (C) con y sin preimbibición.....Pag.19

Figura 2.4: Representación gráfica de la interacción triple de las medias de los tiempos de Germinación de las semillas de *Paspalum dilatatum* Poir. Provenientes de las dos poblaciones estudiadas Loma (A) y Bajo (C) sin y con preimbibición, sometidos a los tratamientos de ambiente materno, Sequía, Capacidad de Campo e Inundación (S;CC e I).....Pag.20

Figura 2.5: Representación gráfica de la interacción Población x preimbibición para el tiempo de germinación de semillas de *Paspalum dilatatum* de poblaciones de Loma y Bajo incubadas en temperaturas alternas (20-35°C).....Pag.21

Figura 3. 1: Representación gráfica del esfuerzo reproductivo (peso de semillas totales: peso de biomasa total) en las dos poblaciones estudiadas (A: Loma y C: Bajo) de

<i>Paspalum dilatatum</i> Poir. en los tres tratamientos simulados en el invernáculo (I: inundación, CC: Capacidad de campo, S: sequía). Las diferencias son significativas ($p \leq 0.05$).	Pag.35
Figura 3.2: Representación gráfica de la relación PBA/PST (costo reproductivo) en las dos poblaciones estudiadas (A: Loma y C: Bajo) de <i>Paspalum dilatatum</i> Poir. en los tres tratamientos simulados en el invernáculo (I: Inundación, CC: Capacidad de campo, S: Sequía). Las diferencias son significativas $p \leq 0.05$).	Pag.36
Figura 3.3: Representación gráfica de la variación del peso de la biomasa total en plantas de <i>Paspalum dilatatum</i> Poir. de los tres ambientes simulados en el invernáculo (Inundación, Capacidad de campo y Sequía). Promedio de las dos poblaciones estudiadas. Test de Fisher LSD ($p \leq 0.01$).	Pag.37
Figura 3.4: Representación gráfica del peso total de semillas total y llenas de plantas de <i>Paspalum dilatatum</i> Poir. provenientes de ambas poblaciones. Test de Fisher LSD ($p \leq 0.01$) como resultado de los tres tratamientos ambientales (Inundación, Capacidad de campo y Sequía). Las diferencias significativas indicadas por letras, se comparan entre idénticas variables. Los resultados son promedios de las dos poblaciones estudiadas.	Pag.38
Figura 3.5: Representación gráfica de la interacción del Número de Macollos totales registrados al 30 de diciembre, en las dos poblaciones estudiadas (A: Loma y C: Bajo) de <i>Paspalum dilatatum</i> Poir. en los tres ambientes simulados en el invernáculo (I: Inundación, CC: Capacidad de campo, S: Sequía). Test de Fisher. LSD ($p \leq 0.05$).	Pag.39
Figura 3.6: Representación gráfica de la variación del peso de la biomasa aérea en plantas de <i>Paspalum dilatatum</i> Poir. de la población de Loma (A) y Bajo (C) en los tres ambientes simulados en el invernáculo (Inundación, Capacidad de Campo y Sequía). Test de Fisher LSD ($p \leq 0.05$).	Pag.40

Figura 3.7: Representación gráfica de la producción del Número de Macollos reproductivos registrados al 30 de diciembre, de <i>Paspalum dilatatum</i> Poir. en los tres ambientes simulados en el invernáculo (Inundación, Capacidad de campo, Sequía), promedio de las dos poblaciones (A y C). Test de Fisher LSD ($p \leq 0.05$).....	Pag.42
Figura 3.8: Representación gráfica de Relación RE30, de <i>Paspalum dilatatum</i> Poir. en los tres ambientes simulados en el invernáculo (Inundación, capacidad de campo y Sequía). Promedio de las dos poblaciones estudiadas Test de Fisher LSD ($p \leq 0.05$)	Pag.43
Figura 3.9: Representación gráfica de la variación de la relación biomasa aérea: biomasa radical (T/R) en plantas de <i>Paspalum dilatatum</i> Poir. de la población de Loma (A) y Bajo (C) en los tres ambientes simulados en el invernáculo (Inundación, capacidad de campo y Sequía). Test de Fisher LSD ($p \leq 0.05$).	Pag.44
Figura 3.10: Representación gráfica de la variación del peso de la biomasa radical en plantas de <i>Paspalum dilatatum</i> Poir. de los tres ambientes simulados en el invernáculo (Inundación, capacidad de campo y Sequía). Promedio de las dos poblaciones estudiadas (A y C). Test de Fisher LSD ($p \leq 0.01$).....	Pag.45.
Figura 3.11: Representación gráfica del peso de biomasa radical de <i>Paspalum dilatatum</i> Poir de las dos poblaciones estudiadas (A: Loma y C: Bajo) para los tres tratamientos (Inundación, Capacidad de campo y Sequía). Promedio de dos poblaciones Diferencias significativas ($p \leq 0.000915$).....	Pag.46

ÍNDICE DE ABREVIATURAS.

A: Población A de la Comunidad de Loma de la Depresión del Salado definidas por León (1975)

C: Población C de la Comunidad de Bajo de la Depresión del Salado definidas por León (1975)

CC: Tratamiento de Capacidad de Campo

I: Tratamiento de Inundación

S: Tratamiento de Sequía

AS0: Combinación de tratamiento de la población de Loma (A) y Sequía (S) sin preimibición (0) de las semillas.

AS1: Combinación de tratamiento de la población de Loma (A) y Sequía (S) con preimibición (1) de las semillas.

AI0: Combinación de tratamiento de la población de Loma (A) e Inundación (I) sin preimibición (0) de las semillas.

AI1: Combinación de tratamiento de la población de Loma (A) e Inundación (I) con preimibición (1) de las semillas.

ACC0: Combinación de tratamiento de la población de Loma (A) y Capacidad de Campo (CC) sin preimibición (0) de las semillas.

ACC1: Combinación de tratamiento de la población de Loma (A) y Capacidad de Campo (CC) con preimibición (1) de las semillas.

CS0: Combinación de tratamiento de la población de Bajo (C) y Sequía (S) sin preimibición (0) de las semillas.

CS1: Combinación de tratamiento de la población de Bajo (C) y Sequía (S) con preimibición (1) de las semillas.

CI0: Combinación de tratamiento de la población de Bajo (C) e Inundación (I) sin preimibición (0) de las semillas.

CI1: Combinación de tratamiento de la población de Bajo (C) e Inundación (I) con preimibición (1) de las semillas.

CCC0: Combinación de tratamiento de la población de Bajo (C) y Capacidad de Campo (CC) sin preimibición (0) de las semillas.

CCC1: Combinación de tratamiento de la población de Bajo (C) y Capacidad de Campo (CC) con preimibición (1) de las semillas.

Mac3012: Macollos registrados al 30/12

MacR3012: Macollos Reproductivos registrados al 30/12

MacV3012: Macollos Vegetativos registrados al 30/12

PBA: Peso de Biomasa Aérea

PST: Peso de Semilla Total

PSLL: Peso de Semillas Total

PSV: Peso de Semillas Vanas

T/R: Cociente del peso de biomasa aérea y el peso de la biomasa radical

RE30: Cociente del N°Macollos Reproductivos y el N° de macollos totales al 30/12

RP: Razón (ratio) de probabilidades

Resumen:

Paspalum dilatatum Poir. ("pasto miel"), es una gramínea forrajera nativa de producción estivo-otoñal, que se halla en la Pampa Deprimida integrando comunidades de loma, media loma o bajo, sujetas periódicamente a inundaciones y sequías, o pastoreo continuo. Con el objetivo de analizar los componentes de la variación se realizaron estudios recíprocos, simulando ambientes de Inundación, Capacidad de campo (Capacidad de campo) y Sequía en semillas y plantas provenientes de Poblaciones de loma (A) y Bajo (C). Se analizó el comportamiento germinativo de las semillas cosechadas de los mencionados tratamientos, con y sin pretratamiento con agua a 4°C e igual concentración salina que el agua de inundación de la región. Se hallaron diferencias significativas, al analizar todos los factores se destaca el comportamiento contrastante entre poblaciones cuando las semillas fueron pretratadas y procedieron de ambientes con sequía. Adicionalmente se halló que el pretratamiento permitió observar diferencias entre las poblaciones que sin el pretratamiento no se manifestaron. Se evaluaron las diferencias en crecimiento vegetativo y reproductivo para cada una de las poblaciones en los tratamientos inundación, capacidad de campo y sequía. En esfuerzo reproductivo, se observa que las plantas de loma, en el tratamiento de Capacidad de campo producen la mayor cantidad de semillas/unidad de biomasa total producida, respecto de las plantas provenientes de la población de bajo. Éstas, no presentan diferenciación en cuanto a los ambientes Inundación y capacidad de campo. Las diferencias halladas en comportamiento vegetativo, tanto para la biomasa aérea como para la relación T/R, entre otros, indicarían la existencia de ecotipos de altos y ecotipos de bajos de la misma especie resultado de presiones selectivas diferentes en altos y bajos.

Palabras claves: *Paspalum dilatatum*, germinación, dormición, preimbibición, Capacidad de campo, Sequía, Inundación, variación genética, ecotipos.

Abstract:

***Paspalum dilatatum* Poir.** ("Dallisgrass"), is a native forage warm grass season, which is in the Flooding Pampa integrating communities of upland, middle or lowland topographical positions, subjects to periodic flood and droughts events or continuous grazing. Aiming to analyze the components of variation an assay of reciprocal environments were conducted simulating Flood, Field capacity (irrigation) and Drought in plants and seeds from Upland (A) and Lowland (C). Germinative behaviour of seeds harvested from the above treatments, with and without presoaking with water at 4 ° C and the same salt concentration as the flood water in the region was determined. Significant differences were found when analyzing all factors. It highlights the contrasting behavior between populations when the seeds were presoaked and proceeded from Drought. Additionally it was found that presoaking can show differences between populations that without the treatment do not appear. We evaluated differences in vegetative and reproductive growth for each of the populations in the treatments. In reproductive effort difference is observed in upland plants with Field capacity, It produces the largest amount of seeds /g total biomass, while the plants from the lowland present no differentiation between Flooding and Field capacity environments. Differences found in vegetative biomass, both aerial biomass and the T/R, among others, indicate the existence of ecotypes from upland and lowland of the same species, developed by different selective pressures in upland and lowland.

Keywords: *Paspalum dilatatum*, germination, dormancy, presoaking, Watering, Drought, Flooding, genetic variation, ecotypes.

CAPÍTULO 1

VARIACIÓN FENOTÍPICA DEL COMPORTAMIENTO VEGETATIVO, REPRODUCTIVO Y GERMINATIVO DE POBLACIONES DE *Paspalum dilatatum* Poir.

1.1 INTRODUCCIÓN GENERAL

La plasticidad fenotípica es la capacidad de un genotipo de producir diferentes fenotipos en respuesta a las condiciones del ambiente (Bradshaw, 1965). Con frecuencia esta capacidad es evaluada analizando las interacciones genotipo-ambiente en sus normas de reacción (pendiente de la norma de reacción). Esto resulta en diferentes respuestas a la selección, dependiendo del ambiente de las plantas madres y sus progenies (Falconer, 1981). Podemos decir que la plasticidad fenotípica está Bajo control genético, responde a la selección y es una propiedad de las poblaciones naturales (Zhivotovsky, *et al* 1996). La variación genética entre poblaciones de plantas ha sido hallada en muy cortas distancias (Bradshaw, 1972; Antonovics, 1984; Turkington y Aarsen, 1984.), posiblemente como consecuencia de que la presión de selección ejercida en cada sitio ha superado al flujo génico migratorio. En plantas de propagación clonal, donde es esperable una menor variación genética, ha sido encontrada una correlación entre determinados caracteres y variables particulares del ambiente, sugiriendo la hipótesis de que la variación genética hallada podría haber sido el resultado de la selección natural (Bradshaw 1959; Snaydon y Davies 1972; Turkington y Harper 1979; Burdon1980; Kelley y Clay 1987). Las fuerzas selectivas que modelaron la estructura genética de aquellas poblaciones deben haber operado fuertemente ya que los genotipos selectos son más abundantes en el hábitat a través de su crecimiento vegetativo, asegurando de este modo la persistencia de ese conjunto de caracteres y variables particulares del ambiente.

***Paspalum dilatatum* Poir.** (“pasto miel”), es una valiosa gramínea forrajera nativa de producción estivo-otoñal, que forma parte de diversas comunidades húmedas en los Pastizales Rioplatenses. No obstante, su importancia como forrajera y su potencialidad como componente estival de pasturas cultivadas, su establecimiento en siembras de pasturas, se ve seriamente limitado debido a la alta proporción de semillas vanas y a la dormición manifestada por las semillas (Ray y Stewart, 1937; Burton, 1939; Holt, 1957; Schrauf, 1994; Schrauf et al., 1995a).

En la Pampa Deprimida, esta especie integra diversas comunidades que cubren llanuras de topografía sumamente plana, sujetas periódicamente a Inundaciones y Sequías, disturbios que impactan profundamente sobre la estructura y función del pastizal (Chaneton et al. 1988).

Las comunidades de la Pampa Deprimida que integra esta especie fueron identificadas por León (1975) como **A**: aquellas ubicadas en los sectores más elevados que nunca se inundan, caracterizada por la presencia de *Melica brasiliensis*, *Diodia dasycephala* y *Echium plantagineum*; **B**: las que se presentan en posición intermedia sometidas a una baja frecuencia de inundaciones, y que se caracteriza por la presencia de *Piptochaetium montevidense*, *Ambrosia tenuifolia*, *Eclipta bellidioides*, *Sporobolus indicus*, *Stipa neesiana*, *Stenotaphrum secundatum* y *Mentha pulegium*; y **C**: las que ocupan posiciones bajas por lo que son inundadas anualmente, y están representadas por *Mentha pulegium*, *Leontodon taraxacoides*, *Alternanthera philoxeroides*, *Trifolium repens* y *Paspalidium paludivagum*. Estas comunidades además se hayan sometidas a otros tipos de estrés como la Sequía y el pastoreo continuo por animales. Las de la posición topográfica más alta sufren la Sequía con mayor frecuencia que las de posición baja, mientras la presencia de pastoreo continuo es indistinta entre posiciones topográficas. Loreti y Oesterheld (1996) han hallado variabilidad atribuible a causas genéticas (o epigenéticas) en ***Paspalum dilatatum*** en atributos asociados a la resistencia a la Inundación o Sequía en poblaciones de los ambientes en estudio. La proporción de biomasa radical tuvo una mayor media y plasticidad en la población del área más alta.

Mientras que la Inundación incrementó la altura de planta en mayor grado en la población de posición intermedia y baja respecto de la de áreas altas. En estudios de variación intrapoblacional en poblaciones de *Ranunculus reptans* asociados a distintos regímenes de Inundación, Lenssen *et al* (2004) han demostrado la existencia de plasticidad morfológica en caracteres vinculados a la aptitud (fitness) como resultado de la exposición a los distintos regímenes de Inundación. Ashraf (2003) ha demostrado comportamientos adaptativos a la Inundación en poblaciones de *Panicum antidotale* Retz. sostenidos por valores constantes de la tasa de asimilación neta de CO₂ y el crecimiento.

También en estudios del comportamiento germinativo en *Paspalum dilatatum* se ha hallado variación fenotípica, habiéndose sugerido que parte de la misma estaría asociada al gradiente topográfico y a la historia de uso (Blanco, 1993; Blanco *et al.*, 1995). La capacidad de habitar zonas con regímenes hídricos contrastantes explicaría que esta especie posea: (a) diferentes ecotipos especializados a las características de los ambientes prevalecientes ó (b) unos pocos ecotipos con gran plasticidad fenotípica (Bradshaw, 1965). Blanco *et al* (1995) sugieren para *Paspalum dilatatum* que en estos sitios habrían operado fuerzas selectivas diferentes, originando genotipos especializados.

No obstante la naturaleza heredable de la variación genética, las variaciones ambientales citadas podrían estar originando cambios inmediatos a nivel de individuo a través del denominado efecto materno. Este efecto materno además de incluir la contribución cromosómica del antecesor materno a la progenie incluye factores citoplásmicos en la transmisión de organelos, efectos endospermáticos (dado que en angiospermas el endosperma contiene un mayor dosaje de genes maternos) y efectos fenotípicos, que implican tanto la influencia del ambiente como del genotipo materno (Wulff, 1985). Estos efectos pueden actuar sobre caracteres particularmente relacionados con la aptitud (fitness), como el peso seco de las semillas y de este modo

introducir variaciones en el comportamiento germinativo, tiempo de emergencia, grado de dormición. Estas variaciones son de relevancia ecológica y evolutiva y además podrían durar más de una generación (Wulff, 1985). En este sentido, estudios más recientes han hallado fenómenos epigenéticos (Rapp y Wendel, 2005) que demuestran que la variación heredable no necesariamente estaría relacionada con modificaciones en las secuencias de bases. Permutaciones nuevas de patrones espaciales y temporales de la expresión génica pueden lograrse mediante cierto tipo de mecanismos epigenéticos (como: metilación del ADN, modificación de las histonas o pequeños ARNs), aun en ausencia completa de variación genética. Schmitz *et al* (2013). Además tendrían estas modificaciones la capacidad de mantenerse por varias generaciones. Este tipo de mecanismos estarían alterando la observación de los procesos evolutivos.

En este trabajo se explora la variación fenotípica y genotípica para distintos caracteres de comportamiento vegetativo y reproductivo de *Paspalum dilatatum* en los ambientes descriptos.

Las respuestas de las plantas a variaciones en el contenido de agua y oxígeno del suelo pueden resultar en ajustes morfológicos, anatómicos y fisiológicos (Naidoo y Mundree, 1993). La energía invertida en producir estas modificaciones o en no producirlas puede ser interpretada como una estrategia de vida en dichos ambientes y ser una medida del ajuste de una planta a su medio (Reekie y Bazzaz, 1987b). El estado reproductivo en un momento dado puede no afectar directamente la sobrevivencia futura o la reproducción pero sí afecta al crecimiento a través de su influencia en el uso de los recursos y patrones de asignación (Reekie y Bazzaz, 1987a). De este modo, al afectar el crecimiento afecta el tamaño de las plantas y en su medida determina el efecto de la reproducción en la sobrevivencia futura y en el esfuerzo reproductivo de las mismas. La variación intraespecífica en patrones reproductivos puede estar relacionada a diferencias en el costo reproductivo. Existiría una ventaja selectiva de modificar los patrones reproductivos para modificar el costo

por semilla. En este sentido en ambientes donde la sobrevivencia de las plántulas es alta respecto de la sobrevivencia de los adultos, aquellos individuos que se reproduzcan en forma temprana y asignen una gran proporción de recursos a la reproducción tendrán una ventaja selectiva respecto de aquellos que no lo hagan (Reekie y Bazzaz, 1987b). De acuerdo a esto las poblaciones de *Paspalum dilatatum* que vegetan en ambientes con disturbios frecuentes (Loma-pastoreo continuo o Bajo-Inundación) pueden tener un grado de adaptación manifiesta como la modificación de los patrones reproductivos para minimizar el costo por propágulo y de esta manera asegurar la provisión de plántulas para un momento donde las condiciones ambientales sean óptimas.

La existencia de las fuerzas selectivas enunciadas, podrían haber determinado variaciones en distintas posiciones jerárquicas dentro de las poblaciones de plantas. Algunas de estas variaciones pueden evaluarse en caracteres de plantas adultas determinando un grado de modificación posible en la escala stand de plantas de relevancia para una especie de crecimiento clonal, mientras otras pueden originarse en las respuestas de sus semillas pasando a la jerarquía siguiente, quedando en la progenie la herencia de estas variaciones. La aproximación al conocimiento de la naturaleza de la variación fenotípica permitiría explicar el éxito de la especie en los ambientes que coloniza y aplicar estos conocimientos tanto al manejo de este recurso forrajero como a su mejoramiento genético. La existencia de variación ofrecería una interesante fuente para ser utilizada en mejoramiento.

Una de las vías de mejoramiento del rendimiento en semilla en *Paspalum dilatatum* Poir. es utilizar ecotipos de un alto esfuerzo reproductivo que mantengan o minimicen el costo reproductivo, evitando así que las modificaciones en la asignación de recursos modifiquen el rendimiento forrajero.

La producción de semilla de las gramíneas megatérmicas perennes es extremadamente baja, su índice de cosecha variaría entre el 5 al 10% (Hacker 1999). En las gramíneas templadas perennes el índice de cosecha en semilla sería normalmente del 10-20% y en

cereales con frecuencia supera el 50%. Estas diferencias ilustran la necesidad de investigar la variación en el potencial de rendimiento en semilla de Pasto miel de modo que permita su mejoramiento y comercialización para que sea incluido en mezclas forrajeras.

Todo lo hasta aquí expuesto generaría una importante fuente de información dado que hasta el presente no se cuenta con información sobre la variación en esfuerzo y costo reproductivo que pudiera ser utilizada en el manejo de semillero.

El comportamiento germinativo de esta especie es errático y hasta el presente trabajo, poco es conocido acerca de su predictibilidad, si bien en este trabajo no se intentará generar variables para ser insertas en un modelo de predicción de germinación de *Paspalum dilatatum* se espera generar conocimientos que sirvan de base para ello en posteriores trabajos.

En algunas áreas de la Pampa Húmeda donde el aporte de biomasa forrajera de calidad está restringido al aporte de las especies tradicionales, con un alto costo, debido a la poca duración de las mismas dadas las condiciones ambientales, el uso de *Paspalum dilatatum* estaría ampliamente justificado incrementando la productividad primaria en el verano y de este modo permitiendo el ingreso al circuito productivo de tierras y productores marginales. Por otra parte en los pastizales de la región pampeana la difundida técnica de “rejuvenecimiento” (aplicación de glifosato+siembra de ryegrass) conllevó la desaparición de especies estivales y la drástica reducción de la oferta forrajera durante el verano (Rodríguez y Jacobo 2013). Esta desaparición de especies C4 genera la urgencia de contar con semilla de pasto miel para reintroducirlo como componente de los pastizales pampeanos.

Se presenta el trabajo de tesis en Capítulos, en el Capítulo inicial se incluye la introducción general, en el segundo Capítulo se refiere al análisis del comportamiento germinativo, en el tercer Capítulo se refiere al comportamiento vegetativo y reproductivo mientras que en el cuarto Capítulo se concluye con una visión general del trabajo realizado y las implicancias de los resultados obtenidos

Capítulo 2:

Variación en el comportamiento germinativo en respuesta a ambiente materno, origen, condiciones de pre-incubación e incubación.

2.I. INTRODUCCION:

2.I.a) Ambiente materno y origen (poblaciones)

Comportamientos germinativos variables registrados en semillas de las mismas poblaciones cosechadas en años sucesivos, permiten sugerir la existencia de efectos maternos sobre las semillas en desarrollo (Schrauf et al., 1995 b). Es conocido que la variación fenotípica expresada por los individuos en términos de comportamiento germinativo puede no solamente deberse a variación genotípica y/o ambiental, sino también al ambiente materno (Soriano, 1957; Harper, 1977; Pontes y Martins, 1982; BenechArnold 1991).

Al alterar la expresión del genotipo, el efecto materno sobre la semilla modifica la aptitud ecológica de poblaciones naturales, afectando así la adaptación de los individuos (Roach y Wulff, 1987; Fenner, 1991). Räsänen y Kruuk (2007) agregan a esta perspectiva más detalle al describirlo como generador de cambios microevolutivos dentro de una población, promoviendo rápidos cambios genéticos entre poblaciones. Si bien el efecto materno puede determinar una disminución en la respuesta a los caracteres seleccionados (Naylor 1964, en Roach y Wulff, 1987), también puede otorgar una característica adaptativa. Esta influencia, que puede ser estructural o fisiológica, estaría localizada en tejidos maternos que rodean al embrión y al endosperma y que influyen marcadamente en la determinación de la dormición, dispersión y en caracteres germinativos. La variación en estos caracteres puede trasladarse al fenotipo del individuo maduro, por lo que sería de importancia tanto en cultivos como en ambientes naturales. Recientemente se han descubierto mecanismos que explicarían cómo las

plantas pueden transmitir a su progenie los efectos ambientales más allá de un efecto fisiológico que afecta a los tejidos maternos. Tanto las metilaciones del ADN, los cambios en las histonas o la regulación mediante ARN pequeños son producto de efectos ambientales y pueden ser “heredados” a las progenies (Rapp y Wendell, 2005).

Existen numerosos estudios sobre efectos maternos que modifican la germinabilidad de la semilla. Se han comunicado como factores causantes de efectos maternos a la latitud (Lacey, 1984), la longitud del día (Benech Arnold, 1991), la posición de la semilla dentro de la planta madre (Benech Arnold, 1991), y el dimorfismo seminal (en Benech Arnold, 1991). La **Sequía** durante el desarrollo de la semilla puede promover dormición o reducirla, según sea el mecanismo por el cual se le impone dormición a la semilla (Fenner, 1991). La temperatura es otro factor ambiental que promueve la germinabilidad en la casi totalidad de las especies experimentadas con sólo algunas excepciones (Benech Arnold 1991). Donohue et al (2012) han probado el efecto que ocasionan cambios de temperatura sobre el desarrollo de las plantas madres en *Arabidopsis thaliana*, afectando la expresión del fitocromo que gatilla la germinación.

Numerosas características de las semillas pueden ser afectadas por el ambiente en el cual está expuesta la planta madre. En este trabajo se analiza el **Comportamiento germinativo** de la semilla, dado que constituye un aspecto clave en la producción de semillas y el establecimiento de la especie en estudio. Dado que la germinación es la etapa de inicio de la vida de la planta, las consecuencias de un cambio ocasionado por el ambiente materno, provocaría cambios en la historia de vida de los propágulos de los fenotipos expuestos (Donohue, 2009), el momento de germinación en el siguiente ciclo es el desencadenante de la ocupación de espacios en un ambiente determinado. Se propone que, así como las respuestas plásticas de las plantas pueden ser seleccionadas (Schlichting y Levin, 1988), la interacción genotipo-ambiente materno puede ser objeto de selección. Se estudiará el efecto **fenotípico materno**, resultante de la interacción ambiente-genotipo de las plantas madre de *Paspalum dilatatum*.

2.1.b) Preimbibición y temperatura sobre orígenes (poblaciones):

Los ambientes que naturalmente coloniza *Paspalum dilatatum* Poir. varían fundamentalmente en régimen hídrico y, probablemente, en otros factores como la disponibilidad de nutrientes y en la calidad de la luz. Dada la importancia de los eventos de Sequía e Inundación en las zonas que coloniza la especie en estudio, en este trabajo se estudiará el efecto de la presencia de agua de Inundación sobre la germinabilidad de las semillas formadas en los ambientes definidos previamente.

Las semillas desprendidas de las plantas madre de poblaciones de áreas bajas, experimentan un período de Inundación en el banco del suelo, generalmente durante el invierno y en ocasiones prolongado hasta la primavera (Cornaglia 2002). Esto puede promover una mayor germinación a través de la preimbibición. Como este evento de Inundación afecta a las semillas de las poblaciones de áreas bajas y no ocurre a las semillas de poblaciones de áreas altas, podría haberse incorporado a ambos genotipos alguna forma de respuesta diferencial en el funcionamiento de sus semillas.

Pons y Schröder (1986) hallaron en *Fimbristylis littoralis* Gaudich., maleza de los arrozales inundados, el requerimiento de temperaturas fluctuantes para la germinación; esta sensibilidad sería aparentemente una manera de censar la profundidad del pelo de agua. Para las semillas en el banco del suelo de las áreas altas el evento de Inundación es inexistente con lo cual se espera al menos una menor respuesta a la preimbibición o a las temperaturas fluctuantes, mientras sería esperable encontrar algún grado de respuesta a las mismas temperaturas en las semillas provenientes del Bajo, dada la repetición de las Inundaciones.

Hipótesis:

- *El ambiente materno modifica la expresión del comportamiento germinativo en poblaciones de semillas de **Paspalum dilatatum** Poir. producidas por plantas que vegetan en posiciones topográficas contrastantes.*
- *El comportamiento germinativo de las poblaciones de semillas de **Paspalum dilatatum** Poir., producidas por plantas que vegetan en posiciones topográficas contrastantes, es diferente y existe variabilidad de acuerdo a las condiciones de incubación entre poblaciones.*

Objetivos:

- Determinar las modificaciones ocurridas en comportamiento germinativo de semillas de **Paspalum dilatatum** Poir. como resultado de variaciones impuestas en el ambiente materno.
- Determinar la variación en comportamiento germinativo de semillas de **Paspalum dilatatum** Poir. ante diferentes condiciones de incubación para poblaciones de posiciones topográficas contrastantes.

2.II. MATERIALES Y METODOLOGIA:

Con el objetivo de corroborar las hipótesis enunciadas se diseñó un experimento con tres tipos de determinaciones de acuerdo a los objetivos planteados:

Durante la Primavera se multiplicaron manualmente, plantas de *Paspalum dilatatum* Poir.obtenidas a partir de semillas de plantas cultivadas en invernáculo que previamente habrían sido extraídas de un pastizal natural de la zona Central de la Depresión del Salado. Los sitios fueron elegidos por ser representativos de los ambientes principales y extremos de la mencionada región. Una de las comunidades vegeta en Bajos inundables y ha sido clausurada al acceso de grandes herbívoros por los últimos 20 años, mientras que la otra comunidad vegeta en Loma y es pastoreada. El comportamiento reproductivo apomíctico de la especie garantiza la identidad de las semillas igual a las plantas madres.

Las plantas así obtenidas fueron cultivadas en el campo experimental de la FAUBA. Cuando adquirieron suficiente tamaño (más de 100 macollos) se replicaron por macollos en macetas para obtener 30 individuos de cada población. Se colocaron los individuos en tres condiciones dentro de invernáculo: Sequía, Inundación y capacidad de campo. La Sequía fue determinada por gravimetría diariamente como el 50 % de capacidad de campo. Para el tratamiento de Inundación se sumergieron las plantas en bateas de aproximadamente 0,70 m x 0,50m, manteniendo una altura de 2 cm de agua por encima del suelo y se recuperó el nivel reponiendo lo evaporado diariamente. Diariamente también se repusieron las pérdidas por evapotranspiración en el tratamiento de capacidad de campo según lo estimado por gravimetría. Se realizó control de malezas con una frecuencia semanal y se pulverizó con triadimefon para prevenir y reducir la incidencia de *Claviceps paspali*.

Se diseñó un experimento para analizar los efectos de: (a) dos niveles de preimbibición de las semillas (con y sin preimbibición), (b) dos poblaciones de origen (Loma: A, y Bajo: C) y, (c) tres ambientes maternos que diferían en las condiciones hídricas (Sequía, Capacidad de campo e Inundación), sobre la dinámica de la germinación.

Se cosecharon semillas durante toda la estación de crecimiento. Las semillas cosechadas de estas plantas se trataron de la siguiente forma:

2.II.i) Incubación a temperatura constante y temperatura alterna:

Con el objetivo de determinar la variación interpoblacional en el comportamiento germinativo, en respuesta a los distintos ambientes maternos impuestos para cada una de las poblaciones, se incubaron las semillas, en cajas de Petri, en las dos condiciones referidas. Por un lado se colocaron semillas en una cámara de crecimiento cuyas condiciones de temperatura y luz fueron 25 ° C, constante y 10 horas de luz / 14 horas de oscuridad. Además y con posterioridad, se colocaron semillas en una cámara de crecimiento cuyas condiciones fueron 35° C durante 10 horas de luz y 20°C durante 14 horas de oscuridad. Johnston y Miller (1964), Schrauf *et al.* (1995) y Blanco *et al.* (1995) hallaron que bajo estas condiciones de incubación se expresan los mayores niveles de germinación en diferentes accesiones.

Se utilizaron muestras de semillas de ambas procedencias producidas en los ambientes maternos generados, la mitad de las cuales fueron preembebidas en agua a 4°C e igual concentración salina que el agua de Inundación de la región (Lavado y Taboada, 1988). Para cada subtratamiento se utilizaron 4 repeticiones con 25 semillas. Se utilizaron cajas de Petri con papel de filtro Whatman. Se recontó el número de semillas cada 1-3 días durante 30 días, y las germinadas fueron removidas. La germinación se definió como el momento de emergencia de la radícula,

Análisis Estadístico

El análisis del comportamiento germinativo ha sido realizado, y aún lo es, mediante los índices de Germinación, pero varios autores han identificado serios problemas conceptuales y estadísticos con ellos (Mc Nair *et al*, 2012). Los problemas conceptuales fundamentales que existen se basan en al menos cuatro propiedades del patrón de germinación que deben ser caracterizadas para poder describir el mismo, estas propiedades son múltiples y van desde la duración del retardo del tiempo de germinación inicial, el porcentaje de germinación de las semillas que germinarán últimas, la velocidad promedio desde el inicio y el cambio en el patrón temporal de la velocidad de germinación desde el inicio. Dada la complejidad de los procesos involucrados no es posible caracterizarlas adecuadamente en un solo índice (Mc Nair, *et al*, 2012). Todas estas dificultades no son un problema en Tecnología de Semillas dado que el porcentaje de germinación es la principal propiedad de interés, y los datos que se utilizan se reducen a solo dos fechas de observación (ISTA, 1985).

Desde el punto de vista estadístico, una gran cantidad de autores utilizan Índices que involucran el análisis de regresión no lineal, pero uno de los requisitos básicos de la regresión no-lineal estándar es que no exista autocorrelación de los residuales, algo que ocurre dado que la germinación en el tiempo T1 no es independiente de la germinación en el tiempo T0 (Mc Nair *et al*, 2012).

Por estas razones, los datos fueron analizados mediante una técnica analítica llamada Análisis de Supervivencia (Cox y Oakes, 1984; Lee, 1980) que permite realizar el análisis de datos provenientes de la observaciones de un conjunto de individuos (en este caso semillas) para los que no se conoce con exactitud cuál será el tiempo de ocurrencia del evento esperado (datos censurados) pero el experimento se realiza durante un lapso determinado con un tiempo de terminación (Hald, 1949). El Análisis de Supervivencia ha sido empleado en el análisis del proceso de germinación y de

otros tipos de datos con distribuciones no normales (Scott y Jones, 1982a, 1982b Foolad *et al.*, 1998; Ponce *et al.*, 1999).

En este enfoque se denomina dato censurado a aquel para el que el evento esperado no se constata en la ventana temporal de las observaciones (*i.e.* la semilla no germina en toda la duración que conlleva el estudio), y el dato se denomina 'censurado de tipo I' (Lee, 1980) cuando para algunos datos el evento ocurre dentro del tiempo t y para otros no. Los datos que se analizaron en este trabajo son datos censurados tipo I (Lee, 1980) de manera que el análisis a través de la técnica mencionada era necesario.

Cuando, de los eventos se registran los intervalos entre observaciones en los cuales ocurren, en lugar de los momentos precisos en que ocurren, (técnicamente imposible presenciar la germinación) los datos se denominan 'censurados por intervalos' (*c.f.* Lindsey y Ryan, 1998).

Además de incorporar como función de probabilidad a la tasa de sobrevivencia, se agrega la tasa de riesgo, como la probabilidad de que el evento de germinación que no ha ocurrido en el tiempo t , ocurra en el intervalo siguiente.

Específicamente, se ajustó a los datos una versión del modelo de Semiparamétrico de Cox de riesgos proporcionales, modificado para la contemplación de datos censurados por intervalos. Debido a que la incertidumbre dentro de los intervalos es comparable con la correspondiente a la extensión total del estudio, es necesario incorporarla a través de un Ratio de probabilidad (RP) de ocurrencia para evitar subestimar los efectos de los tratamientos y darle más robustez al análisis.

En el modelo, la variable dependiente es el Tiempo de Germinación (TG), el cual es observable. Los tratamientos no resultan en un TG determinado, sino que el TG es una variable aleatoria y su ratio de probabilidad (RP) es un estadístico de la distribución de probabilidad que tiene al TG como variable aleatoria. Entonces los tratamientos modifican la distribución de probabilidad de TG (la variable dependiente),

y esa modificación es cuantificada por la variación en RP. Esta interpretación es la que se usa generalmente en la regresión lineal, donde la variable independiente afecta la distribución de probabilidad de la variable dependiente, y esa modificación se cuantifica por la variación de la media.

La expresión matemática del modelo es

$$p_{ijkt} = \lambda_t * \exp(a_i + b_j + c_k + ab_{ij} + ac_{ik} + bc_{jk} + abc_{ijk})$$

donde (p_{ijkt}) representa a la probabilidad de que, entre las observaciones ($t - 1$) y (t), una semilla proveniente de la i -ésima población, germine en el j -ésimo ambiente dado que recibió ($k = 1$, o no recibió, $k = 0$) tratamiento de preimbibición.

Los parámetros a , b y c corresponden a los efectos simples, los ab , ac y bc a las interacciones dobles y el parámetro abc a la interacción triple entre los factores del tratamiento. El factor λ es un parámetro específico a cada intervalo de tiempo y, como supuesto del modelo, no interactúa con los efectos del tratamiento. Todos los parámetros se estimaron por regresión binomial, cuyas estimaciones, bajo los supuestos del modelo, tienen distribuciones normales (McCullagh y Nelder, 1989).

Para cada tratamiento se generaron intervalos de confianza corregidos para múltiples comparaciones según el test de Kramer-Tuckey (Kramer, 1956), y la significancia estadística de las diferencias entre los tratamientos se evaluó por superposición de los intervalos (c.f. Tukey 1991).

El procesamiento de los datos, ajuste del modelo planteado, visualización y tests de las estimaciones fueron implementados en el lenguaje de programación estadística R (www.r-project.org).

Los valores asignados a las variables independientes son:

$$y_{ijkt} \sim \text{binomial}(n_{ijkt}, p_{ijkt})$$

$i \rightarrow$ Población $\in \{C, A\}$

$j \rightarrow$ Ambiente $\in \{S, CC, I\}$

$k \rightarrow$ Preimbibición $\in \{\text{con}, \text{sin}\}$

t -> Tiempo $\in \{2, 4, 7, 9, 11, 15, 18, 29\}$

n_{ijkt} : número de semillas del tratamiento “i,j,k” que todavía no habían germinado antes de la observación del día “t”.

$$p_{ijkt} = \lambda_t * \exp(a_i + b_j + c_k + ab_{ij} + ac_{ik} + bc_{jk} + abc_{ijk})$$

$$p_{C,S,con,t} / \lambda_t = \exp(a_C + b_S + c_{con} + ab_{C,S} + ac_{C,con} + bc_{S,con} + abc_{C,S,con})$$

2.III. Resultados:

Los resultados de acuerdo al análisis estadístico, mostraron interacciones significativas ($p \leq 0,000001$) para en el RP para el factor preimbibición y el factor poblaciones, esto implica que los tiempos de germinación alcanzados por las semillas de ambas poblaciones difieren significativamente dependiendo de si han recibido o no el tratamiento de preimbibición. A 25°C, las poblaciones se diferencian en el tratamiento de Sequía. Las semillas preembebidas de la población de Loma en el tratamiento de Sequía (AS1) presentan el valor más bajo de RP, mientras las semillas del Bajo en el mismo tratamiento (CS1) presentan el RP más alto, sin ser esta significativamente diferente de las semillas de Loma de los tratamientos con disponibilidad hídrica (AI1 y ACC1).

Figura 2.1. :

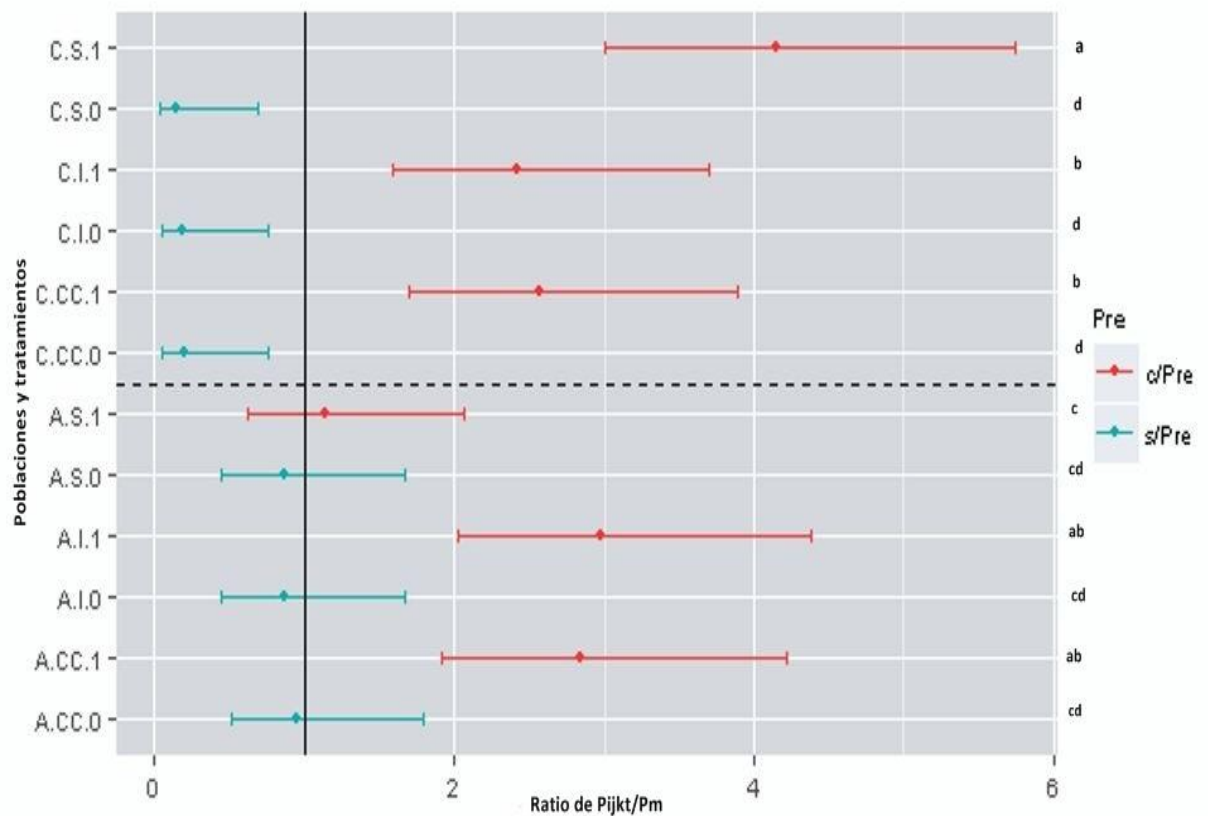


Figura 2.1: Representación gráfica del RP (ratio de probabilidad de cada tratamiento, en el eje “y” están los distintos tratamientos, y la probabilidad promedio de todos los tratamientos), de semillas de *Paspalum dilatatum* Poir., de las dos poblaciones (A y C), provenientes de los tratamientos de ambiente materno, Capacidad de campo (CC), Inundación (I) y Sequía (S), colocadas en cámaras de germinación a temperatura constante. Los números 0 y 1 indican los tratamientos de preimbibición, sin (0) y con (1). La línea negra indica el valor de referencia $RP = 1$ donde la P_{ijkt} es igual a la P promedio del experimento. Test de Tuckey.

En condiciones de incubación de 20-35°C se diferencian nuevamente los RP de ambas poblaciones en el tratamiento de Sequía. Las semillas provenientes de la población del Bajo, en ambiente de Sequía mostraron mayor requerimiento de

imbibición en estas condiciones.

Figura 2.2:

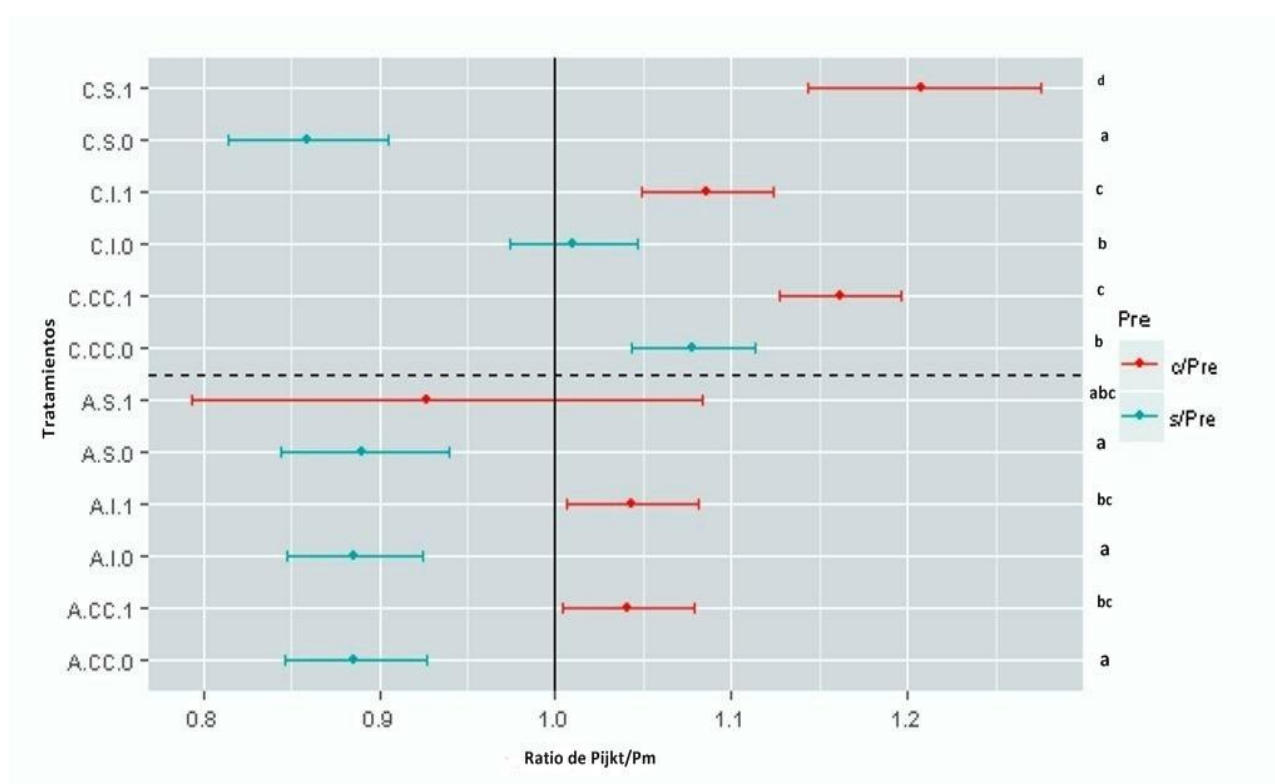


Figura 2.2: Representación gráfica del RP (ratio de probabilidad de cada tratamiento, en el eje “y” están los distintos tratamientos, y la probabilidad promedio de todos los tratamientos), de semillas de *Paspalum dilatatum*, de las dos poblaciones (A y C), provenientes de tratamientos de ambiente materno, Capacidad de campo (CC), Inundación (I) y Sequía (S), colocadas en cámaras de germinación a 20-35°C, con luz alterna. Los números 0 y 1 indican los tratamientos de preimbibición, sin (0) y con (1). La línea negra indica el valor de referencia RP =1 donde la Pijkt es igual a la promedio del experimento. Test de Tukey.

En las figuras siguientes, a través de un análisis de medias se muestra las diferencias halladas para la interacción doble y triple en el tiempo de germinación. En las semillas incubadas a 25 °C y en las incubadas a 20-35°C.

Figura 2.3:

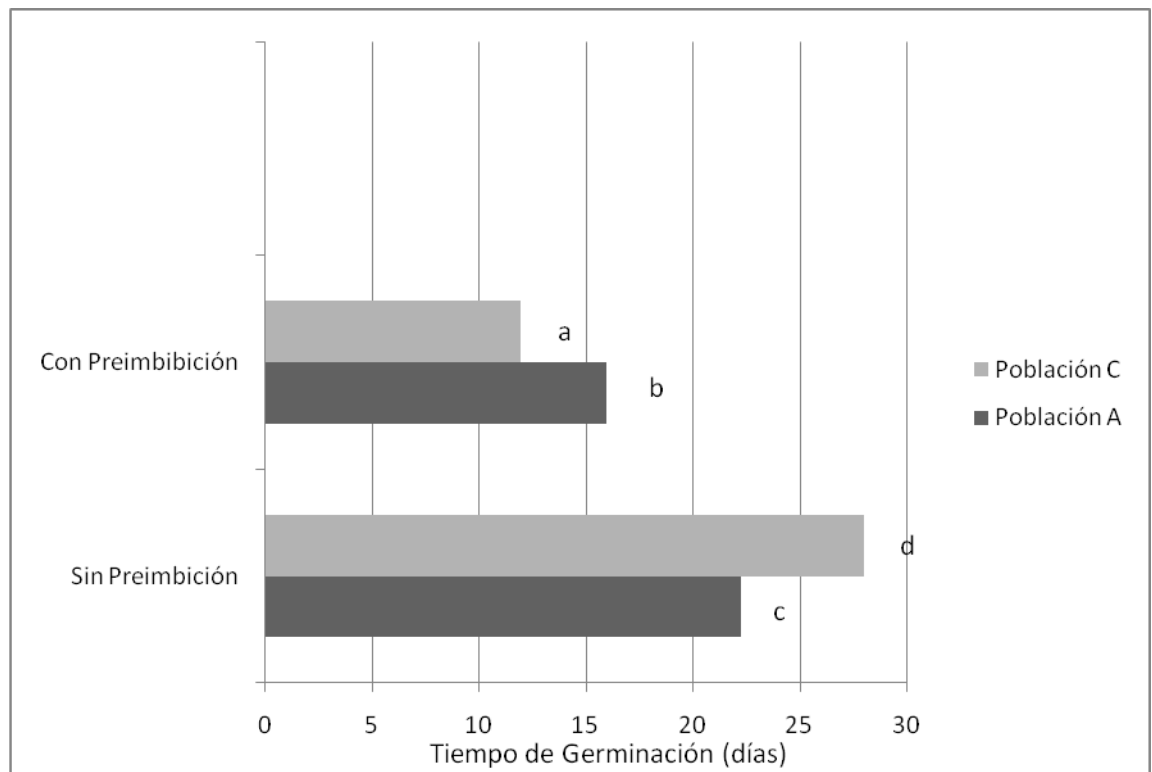


Figura 2.3.: Representación gráfica de las Medias de los tiempos de Germinación de las semillas de *Paspalum dilatatum* Poir. Provenientes de las dos poblaciones estudiadas Loma (A) y Bajo (C) con y sin preimbibición, incubados a 25°C. Letras diferentes indican diferencias significativas. Test de Fisher LSD $p \leq 0,05$

La Figura 2.3 muestra que el tiempo medio para germinar se reduce con el tratamiento de preimbibición y que las diferencias entre tratamientos con y sin preimbibición son mayores en la población del Bajo respecto de la población de la Loma.

Figura 2.4:

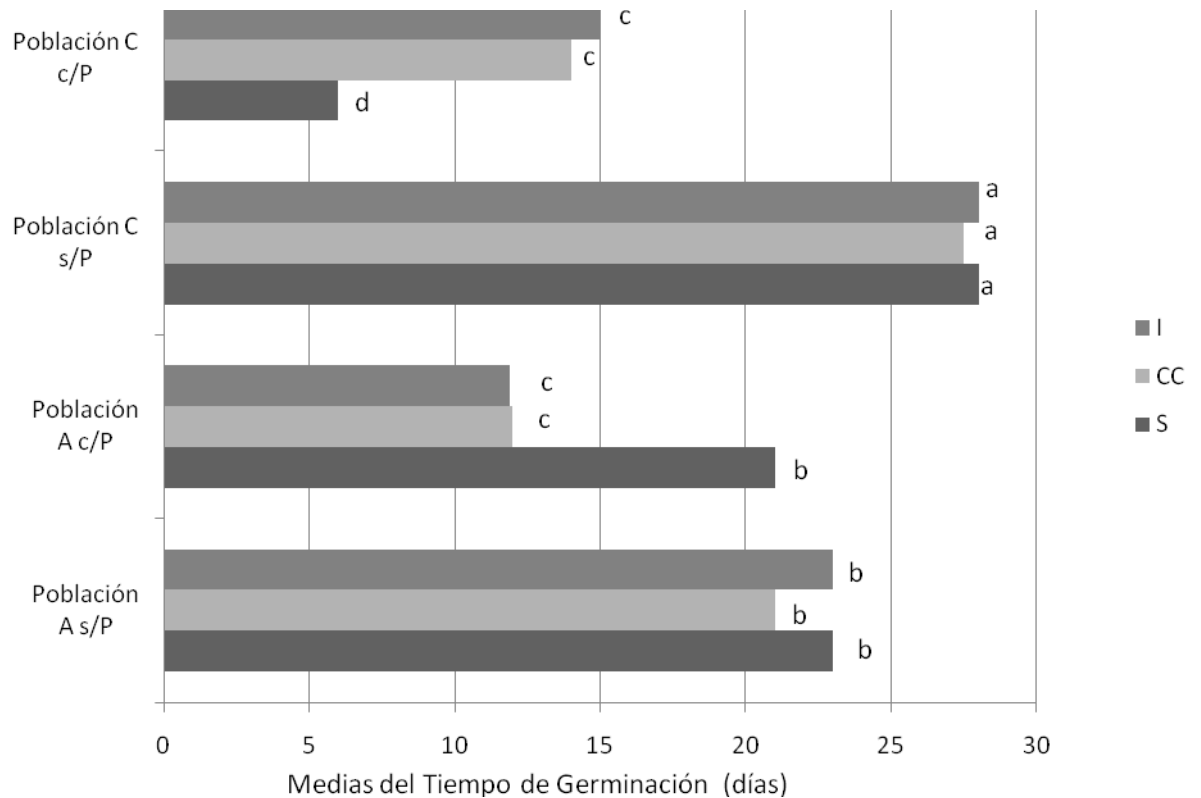


Figura 2.4: Representación gráfica de la interacción triple de las medias de los tiempos de Germinación de las semillas de *Paspalum dilatatum* Poir. Provenientes de las dos poblaciones estudiadas Loma (A) y Bajo (C) sin y con preimbibición, sometidos a los tratamientos de ambiente materno, Sequía, Capacidad de campo e Inundación (S;CC e I) incubados a 25 °C. Letras diferentes indican diferencias significativas. Test de Fisher LSD $p \leq 0,05$

En la Figura 2.4 se observa en la media del tiempo de germinación, al analizar todos los factores, el contraste entre poblaciones cuando las semillas fueron preembebidas y procedieron de ambientes maternos con Sequía. Las semillas provenientes del Bajo, cuando el tratamiento de ambiente materno es Sequía, tienen mayor requerimiento del tratamiento de preimbibición.

Para las semillas incubadas en temperatura alterna (20-35°C) el análisis de Medias del tiempo de germinación muestra diferencias significativas para ambas poblaciones, tanto cuando son no preembebidas como cuando lo son. La preimbibición muestra un cambio significativo en los tiempos de germinación. Cuando las semillas son preembebidas ambas poblaciones responden de la misma manera, independientemente del ambiente materno que se haya simulado.

La Figura 2.5 muestra las medias del tiempo de Germinación para los factores principales significativos (Población y Preimbibición).

Figura 2.5:

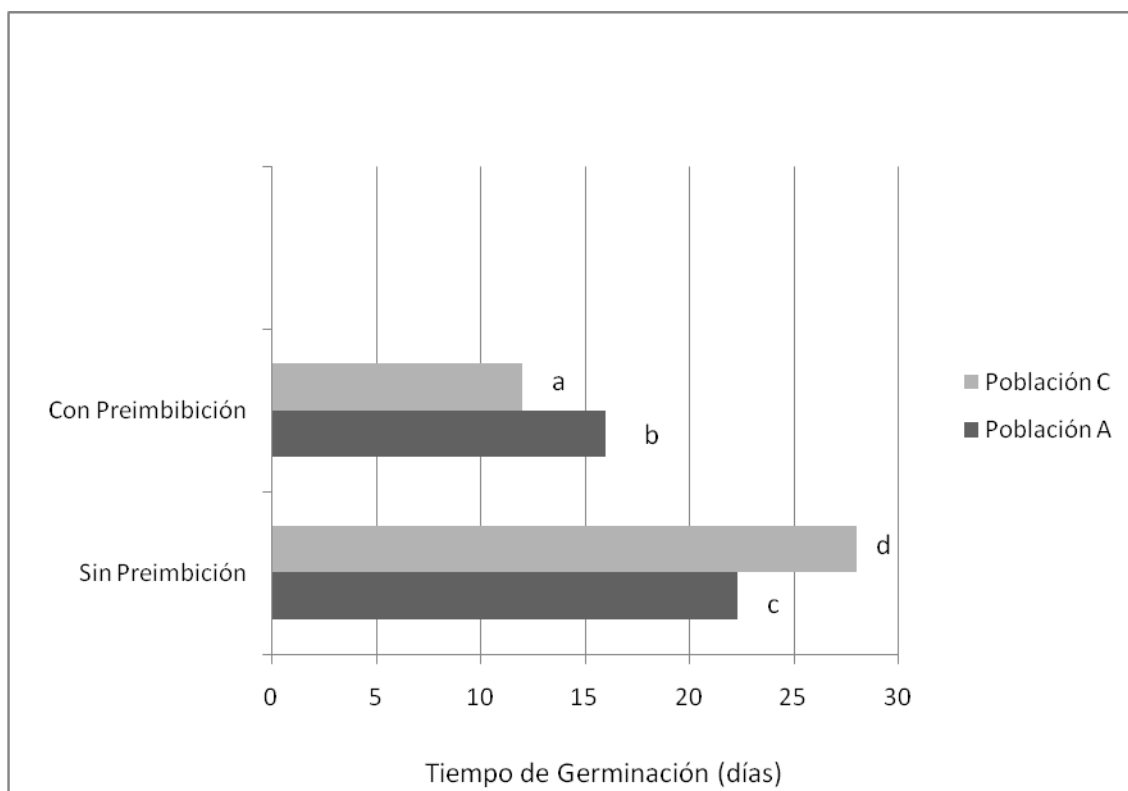


Figura 2.5: Representación gráfica de la interacción Población x preimbibición para el tiempo de germinación de semillas de *Paspalum dilatatum* de poblaciones de Loma (A) y Bajo (C) incubadas en temperaturas alternas (20-35°C). Letras diferentes indican diferencias significativas. Test de Fisher LSD $p \leq 0,05$

2.IV. Discusión:

La variación en el comportamiento germinativo puede tener causas ambientales, de ambiente materno, genéticas o de interacción entre éstas (Soriano 1957, Harper 1977, Pontes y Martins 1982, Benech Arnold *et al.*, 1991). Las razones para que una semilla no germine pueden ser muchas (Bewley y Black, 1985). Inicialmente puede tratarse del efecto sencillo de la falta de Imbibición, otra razón es que las condiciones ambientales son insuficientes para la germinación y una tercera es que aun siendo las condiciones ambientales suficientes la semilla presente dormición.

De trabajos anteriores es conocido que la temperatura óptima de germinación de *Paspalum dilatatum* es 20-35°C. (Schrauf *et al*, 1995 b) pero la preimbibición parece dejar a las semillas de estas dos poblaciones en diferentes estados de sensibilidad para percibir las condiciones ambientales.

La Inundación, además de actuar como agente modelador de la vegetación a través de la selección natural (Ashraf 2003, Lenssen *et al* 2004), tiene un rol importante al actuar como agente natural de preimbibición de las semillas de *Paspalum dilatatum* presentes en el suelo. El efecto de la preimbibición sobre la germinación total y la velocidad de germinación es conocido (Khan *et al* 1980), esta respuesta en la especie en estudio traería aparejada una ventaja adaptativa respecto de los demás competidores en el stand. Los “gaps” formados como consecuencia del pastoreo o Inundación pueden ser efímeros (Insausti *et al* 1995), lo que exacerba la importancia de una germinación rápida. Harper (1977) sugiere que el éxito de una planta individual dentro de una comunidad vegetal está determinado mucho antes del evento disturbante. Su desarrollo inicial, será una función de los recursos de la semilla, de su tasa de crecimiento relativo en tales ambientes, del período de tiempo que es capaz de crecer a esa tasa y de las restricciones a esa tasa o al tiempo asignado al período de crecimiento por sus vecinos. La mayor sensibilidad ocurrida luego de la preimbibición (Inundación) estaría siendo el

pasaje a un estado de mejor aprovechamiento del gap de características efímeras generado por el mismo evento de Inundación.

Temperatura constante:

Los mayores tiempos de germinación mostrados en el ensayo realizado a temperatura constante pueden tener distintas implicancias. Desde el punto de vista de la fisiología de las semillas puede tratarse de un mecanismo de ruptura de dormición que no es posible alcanzar a 25 °C, en este sentido, para la especie diversos autores han hallado el requerimiento de temperaturas alternadas para la germinación (Ray y Stewart, 1937, Blanco *et al*, 1995; Schrauf *et al*, 1995a). Desde el punto de vista de la ecofisiología de la especie, la menor respuesta, puede significar la existencia de un mecanismo de detección de “gaps” (Cornaglia, *et al*. 2009), mediante el cual la especie *Paspalum dilatatum* asegura su supervivencia.

La temperatura constante podría ser censada por las semillas como una señal de que el agua aún no se ha retirado, de modo inverso Pons y Schroder (1986) hallaron en *Fimbristylis littoralis* Gaudich., maleza de los arrozales inundados, germinación reducida bajo agua, y requerimientos de temperaturas fluctuantes para la misma, esta sensibilidad sería aparentemente una manera de censar la profundidad del pelo de agua. En el mismo sentido, fue hallado para semillas de *Setaria parviflora*, (Mollard *et al*, 2007) presentes en el banco de semillas de comunidades de la Depresión del Salado, la inducción a dormición secundaria como consecuencia de la Inundación, solo ocurriendo la germinación después de la exposición a temperaturas alternas.

Para las semillas en el banco del suelo de la posición de la Loma este evento es inexistente o su frecuencia es baja, lo que podría explicar una menor respuesta respecto de la población del Bajo.

a) Interacción población x preimbibición

Los resultados sugieren que, cuando las condiciones de temperatura no son completamente satisfechas (25 °C constante), las semillas provenientes de la población de Bajo tienen mayores requerimientos de preimbibición, o un mayor grado de dormición que las semillas provenientes de Loma. Estos resultados confirman parte de las hipótesis de este trabajo, que propone que el comportamiento germinativo de las poblaciones de semillas de *Paspalum dilatatum* Poir., producidas por plantas provenientes de poblaciones que vegetan en posiciones topográficas contrastantes, es diferente y esta diferencia ha sido moderada por los efectos de Inundación y Sequía ocurrientes en cada comunidad.

b) Interacción triple población x efecto materno ambiental x preimbibición

El tratamiento de preimbibición puede estar lavando inhibidores (Bewley y Black, 1985) o avanzando procesos de desarrollos en estas semillas (Heydecker y Coolbear, 1977; Welbaum y Bradford 1991). Aunque para el ensayo fueron usadas semillas secas, el secado de post-cosecha en semillas de *Paspalum dilatatum* es completamente dispar, las experiencias de este grupo de investigación en semillas cosechadas de estas poblaciones durante varios años es que en la misma panoja coexisten semillas inmaduras verdes con semillas maduras. Probablemente esta característica es muy común en poblaciones de plantas no domesticadas (Herser, 1988), de este modo la preimbibición actúa como un homogeneizador del comportamiento de las semillas. Además, las plantas que crecieron en ambientes de Sequía produjeron semillas más pequeñas que en los otros dos ambientes (capacidad de campo e Inundación) (datos no presentados), los resultados muestran que las semillas provenientes de la Loma, en Sequía, parecen poseer más dormición que las restantes. Esta relación inversa entre tamaño y requerimientos para la germinación también fue hallada por Wulf (1985). En un

trabajo previo se explicó las diferencias en comportamiento germinativo por el menor tamaño de las semillas producidas por las plantas pastoreadas (Blanco et al 1995).

La falta de disponibilidad hídrica puede estar ejerciendo un efecto sobre varios factores determinantes de la germinación. Una reducción del tamaño y número de las semillas, un endurecimiento de las cubiertas seminales, (Fenner, 1992), un cambio en la sensibilidad embrionaria al ABA, o un cambio en el contenido de ABA; pero estos factores no son analizados en este trabajo.

En los Bajos, los eventos de Inundación ocurren al menos una vez al año. Según Grimoldi y Loreti, (2001). El contenido hídrico del suelo y la duración del período de Inundación es relativamente mayor en la comunidad C (Bajo) del pastizal natural ubicado en el mismo lugar de donde fueron tomadas las muestras originales de las poblaciones de semillas analizadas. Las semillas provenientes de la población de Bajo del tratamiento de Sequía (S) tienen una mayor dependencia del evento “Inundación” para alcanzar una rápida germinación, (dado que tienen dependencia de la preimbibición) (Fig.2.4). Este es un comportamiento similar al encontrado en especies del desierto (Kigel, 1995). Sus tasas de germinación son tan bajas que requieren ser estimuladas después de una prolongada imbibición. Esta es probablemente una estrategia para asegurar que la germinación ocurra solo luego de una intensa lluvia. La falta de variación observada en las semillas provenientes de los otros dos ambientes maternos puede explicarse debido a que estos ambientes no significan un importante cambio en la disponibilidad de recursos para la producción de semillas. De este modo, posiblemente ningún mecanismo determinante de la liberación de la dormición fuera modificado. Para Grimoldi y Loreti, (2001), los eventos de Sequía resultan más severos en las Lomas (A) del mismo pastizal natural, registrándose los valores más Bajos de contenido hídrico durante el principio del verano. En estos ambientes los eventos de Sequía son frecuentes pero no lo son las inundaciones. Probablemente los mecanismos que median la salida de la dormición en las poblaciones de Loma son diferentes a los que ocurren en la población de Bajo. La Sequía durante la formación de las semillas, en

plantas de la Loma, además de modificar mecanismos de salida de dormición, podría estar siendo percibida como una señal de condiciones inadecuadas para la multiplicación reproductiva.

Temperatura y luz alternadas

El análisis de los resultados obtenidos mostrados en las figuras 2.2 y 2.5 sugieren diferencias en las poblaciones estudiadas para los factores en cuestión.

Estas diferencias pueden contribuir a variaciones en la capacidad de colonización de la especie. La población de Loma (A) presenta un menor tiempo de Germinación, o un menor grado de dormición, característica que permitiría a las semillas provenientes de esta población aprovechar con mayor velocidad los recursos disponibles (agua y temperatura). En otras especies como *Ambrosia tenuifolia* (Insausti *et al*, 1995), habitante de zonas que sufren inundaciones periódicas, como las que ocurren en la Pampa Deprimida, aumentó la emergencia de plántulas luego de la ocurrencia de la Inundación. Voesenek *et al.* (1992), encontraron que la emergencia de *Rumex crispus* y *R. palustris* se caracterizaron por la producción de cohortes de plántulas luego de la ocurrencia de inundaciones.

Respecto de los ambientes de formación de la semilla o ambientes maternos, puede hacerse la misma observación en los ambientes de formación constituidos por Capacidad de campo (Capacidad de campo) e Inundación, constituyendo la Sequía como ambiente de formación de semilla, el causante de germinación más lenta (o mayor dormición), pero a su vez el ambiente materno que mostró la mayor diferencia entre preembebida y no preembebida (Figura 2.2). Independientemente de qué mecanismos estén involucrados en la respuesta, este comportamiento puede ser interpretado como

susceptible de ser seleccionado. Es decir como una respuesta adaptativa de la especie a condiciones de Sequía.

En cuanto al efecto de preimbibición, se observa que aunque la temperatura (20-35 °C) es una condición importante para la germinación, la preimbibición actúa como concentrador del evento Germinación. Esto significaría que las fracciones de semillas presentes en el suelo durante un evento de Inundación quedarían en condiciones de germinar ante la presencia de las condiciones y los recursos necesarios para la misma (agua y temperatura). Esta característica podría otorgar a ambas poblaciones una capacidad de reserva de individuos utilizables como reaseguro en el caso de existir adversidades durante los primeros eventos de Germinación y Emergencia.

El efecto de preimbibición, afecta positivamente la germinación en ambas poblaciones, aunque en distinto grado, la diferencia se manifiesta tanto en los tiempos medios como en la relación de probabilidades (RP). Las semillas de la Loma germinan con más rapidez que las del Bajo, y en condiciones de germinación óptimas (20-35°C) para la especie. Los tratamientos de ambiente materno promueven una diferencia positiva en Sequía para las semillas provenientes del Bajo.

Capítulo 3:

Variación de caracteres en las plantas adultas: esfuerzo reproductivo, cambios en la asignación de recursos entre el compartimiento aéreo y radical.

3.1.Introducción:

3.1.a Esfuerzo reproductivo.

Se ha pretendido explicar el grado de inversión reproductiva (biomasa en estructuras reproductivas) en función del costo asociado a la reproducción (costo reproductivo) (Harper, 1977; Antonovics, 1980) estimando la pérdida de crecimiento en biomasa por unidad de semilla producida.

El esfuerzo reproductivo es una medida de los recursos asignados a reproducción. Implica toda la producción de recursos asignados a las estructuras florales. La sola producción de semillas es variable y dependiente de un número de variables ambientales (patógenos, predadores, clima, polinizadores, etc) sobre los cuales las plantas tienen poco o ningún control (Thompson y Stewart, 1981). El esfuerzo reproductivo, es además de los recursos asignados a las semillas y otras estructuras reproductivas, la energía o carbono asignados por la planta al evento reproductivo. La reproducción involucra no solamente la producción de flores y frutos, sino también la producción de estructuras de sostén, la pérdida de carbono vía respiración y en algunos casos la ganancia de Carbono vía fotosíntesis de los órganos reproductivos (Reekie y Bazzaz, 1987). Esto introduce la definición de costo reproductivo, que surge del análisis de la biología reproductiva en términos de economía de los recursos involucrados en la reproducción (Karlsson y Méndez, 2005). Tomando el modo de análisis de Reekie y Bazzaz (1992), quienes analizan la variación del costo reproductivo

como resultado del ambiente y el genotipo, es posible comparar el comportamiento de los distintos “ecotipos” analizados con referencia a uno de los ambientes (Capacidad de campo), considerándolo como el que sostendría mayor producción vegetativa en desmedro de la reproductiva, factible en una especie perenne.

3.I.b) Cambios en la asignación de recursos en los compartimientos aéreo y radical:

En los ambientes que naturalmente coloniza *Paspalum dilatatum* ocurren significativos cambios que pueden promover distinto fenotipo. Las plantas tolerantes a Inundación poseen diferentes tipos de raíces e inclusive con diferencias en su anatomía (Hook, 1984). Se ha hallado variaciones en el rendimiento total y radical de diversas poblaciones estudiadas (Loretti y Oosterheld, 1996). Estos cambios en la asignación de recursos a compartimiento aéreo y subterráneo podrían, a la vez, traer aparejado que dentro del aéreo exista una asignación diferente al sistema reproductivo, situación que adquiere mayor significación al pensar en las consecuencias directas sobre el “fitness” promedio de las poblaciones y sus progenies. Las respuestas en la asignación de recursos ante modificaciones en el ambiente es común de observar en plantas, sin embargo el hecho de que esas modificaciones del ambiente impliquen o no un estrés para el individuo significa respuestas cualitativamente diferentes (Favret, 1980; Soriano, 1980). Si las poblaciones procedentes de diferentes sitios topográficos han evolucionado en función de esas diferencias ambientales que implican diferencias en frecuencia e intensidad de inundaciones, es posible considerar que las respuestas de sus individuos difieran ya que para algunos implicará un estrés ambiental y para otros no. En este trabajo se estudiará la magnitud de las variaciones en los compartimientos aéreo y subterráneo en las distintas poblaciones y su asociación con el comportamiento reproductivo de las mismas en los ambientes de Inundación y Sequía.

En este trabajo se plantearon las siguientes hipótesis para las plantas provenientes de poblaciones de Bajos y Lomas.

Hipótesis:

- *Los eventos de Inundación y Sequía afectan de diferente forma el esfuerzo reproductivo de plantas de posiciones topográficas contrastantes de **Paspalum dilatatum** Poir.*
- *Los eventos de Inundación y Sequía afectan diferencialmente la asignación de recursos al compartimiento aéreo y radical de plantas de posiciones topográficas contrastantes de **Paspalum dilatatum** Poir*

Objetivos:

- *Determinar la variación en el esfuerzo reproductivo en plantas de **Paspalum dilatatum** Poir. que vegetan en posiciones topográficas contrastantes.*
- *Determinar la variación en la asignación de recursos al compartimiento aéreo y radical de plantas de **Paspalum dilatatum** Poir. originarias de posiciones topográficas contrastantes (Lomas y Bajos).*

3.II. MATERIALES Y METODOLOGIA:

Con el objetivo poner a prueba las hipótesis enunciadas se diseñó un experimento factorial de 2x3, dos poblaciones y tres condiciones ambientales, Capacidad de campo (capacidad de campo), Inundación y Sequía, de acuerdo a los objetivos planteados.

Se utilizaron las mismas plantas de las mismas poblaciones descritas en el capítulo II en Materiales y Métodos.

a) Esfuerzo Reproductivo y b) Cambios en la asignación de recursos en los compartimientos aéreo y radical:

Con el objeto de probar la existencia de variación fenotípica y genotípica en esfuerzo reproductivo en plantas de *Paspalum dilatatum* Poir. que vegetan en posiciones topográficas contrastantes se realizaron las siguientes determinaciones en sucesivos conteos, se registraron el N° de macollos vegetativos, N° de macollos reproductivos, N° macollos totales. Al final de la estación de crecimiento se determinó el peso total de semillas, vanas y llenas (PST, PSV, PSII).

El esfuerzo reproductivo se estima por la relación: biomasa en semillas/biomasa total (PST/PBT, que estaría significando los gramos de semilla producidos por cada gramo de materia seca total). Otra variable asociada al esfuerzo reproductivo sería la relación entre macollos reproductivos/macollos totales (RE30). En el cálculo de esfuerzo reproductivo el peso de semillas total (PST) involucra llenas (PSII) y vanas (PSV).

Se calculó la relación biomasa aérea/biomasa en semillas (PBA/PST). Esta última variable está asociada a la estimación del costo reproductivo dado que se trata de los gramos de biomasa aérea producidos por cada gramo de semilla producido. Diferentes respuestas entre ecotipos de la misma especie (sometidos a distintas presiones selectivas) implican diferencias en el grado de inversión de carbono por cada gramo de

semilla producido. La biomasa aérea conforma una medida confiable del efecto de la reproducción (detrimental o no) sobre el **crecimiento futuro de la planta** (Reekie y Bazzaz, 1992)

Se estimó el cociente entre número de macollos reproductivos/macollos totales al 30 de diciembre (RE30), debido a que esta fecha fue la única en la que el macollaje (vegetativo y reproductivo) presentó diferencias significativas y la relación T/R (peso de Biomasa aérea: Biomasa radical). Para la determinación del peso de los distintos componentes, las plantas fueron disectadas al finalizar el experimento, previo lavado individual la planta entera con agua gravimétrica en tamices de distintos tamaños diametrales, para recolectar las distintas fracciones de raíces y así evitar su pérdida. En la fracción aérea se incluyeron las hojas secas en pie al momento de la cosecha. La disección permitió identificar como parte aérea a la fracción cortada justo debajo de la base de los macollos, y la fracción radical incluyó raíces y pequeños rizomas.

Los datos fueron analizados estadísticamente a través de un Análisis de Varianza Multivariado (MANOVA), se observó la confirmación de la aplicación correcta del MANOVA, a través de los índices de Wilk's Lambda, Rao R y Pillai-Bartlett. Para la comparación de medias se aplicó la prueba de Fisher. Se utilizó el programa Statistica de StatSoft South America.

3.III.RESULTADOS:

Los resultados de las variables estudiadas tanto para la determinación del punto **a)** como el **b)** fueron analizados en forma conjunta.

En la tabla de MANOVA (Tabla 3.1) se observan las diferencias significativas de cada una de las variables analizadas para a) esfuerzo reproductivo y b) la asignación de recursos de las plantas provenientes de los cada uno de los tratamientos de disponibilidad hídrica aplicados (Inundación, Capacidad de Campo y Sequía) y para las dos poblaciones estudiadas.

Tabla 3.1.

Variable dependiente	Disponibilidad Hídrica (I, CC,S)		Poblaciones (A Y C)		Interacción D X P	
	F (gr 1,2) 2,85	P	F (gr 1,2) 2,85	P	F (gr 1,2) 2,85	P
MAC3012	307.796	.051221	111.997	.292924	5.597.031	.005206
MACR3012	1.340.022	.000009	.15523	.694572	1.169.603	.315436
PBA	330.344	<i>.041530</i>	.57403	.450758	3.970.440	<i>.022466</i>
PBA/PST	395.293	<i>.022828</i>	.45658	.501062	3.819.555	<i>.025795</i>
PST/PBT	15.04	0.0000	11.14	0.0012	8.39	0.0000
PBMRA	573.209	.004621	1.180.709	.000915	.482621	.618845
PBT	452.707	<i>.013544</i>	322.246	.076189	1.911.724	.154127
PSEVA	252.986	.085656	505.517	.027140	2.963.715	.056986
PSELL	2.706.981	.000001	.01487	.903231	1.270.228	.286042
PST	1.062.057	.000076	177.325	.186540	1.850.614	.163416
RE30	3.833.192	.000001	188.568	.173302	1.330.864	.269698
RELTR	.53979	.584857	493.019	<i>.029052</i>	5.672.836	.004869

Tabla 3.1: Análisis de Varianza de dos vías: dos tratamientos, disponibilidad hídrica con tres niveles (Inundación, Capacidad de Campo y Sequía) y población con dos niveles (Loma y Bajo). Significancia al 1 % (**en negritas**), significancia al 5 % (**en itálicas**).

A continuación se desarrollan los efectos hallados de acuerdo al nivel de significación de las diferencias halladas estadísticamente y su valor biológico. Primeramente se muestra

los análisis con referencia a la asignación de recursos a la reproducción (a) y a continuación respecto a la asignación parte aérea/subterránea (b).

3.III.a) Esfuerzo reproductivo:

En ambas poblaciones se observa un efecto significativo para la interacción de los factores Población x tratamiento. Los resultados del esfuerzo reproductivo (PST/PBT) muestran que la población del Bajo realiza un mayor esfuerzo reproductivo respecto de la población de la Loma. Sin embargo, ambas poblaciones muestran un patrón similar respecto de la disponibilidad hídrica.

Fig. 3.1:

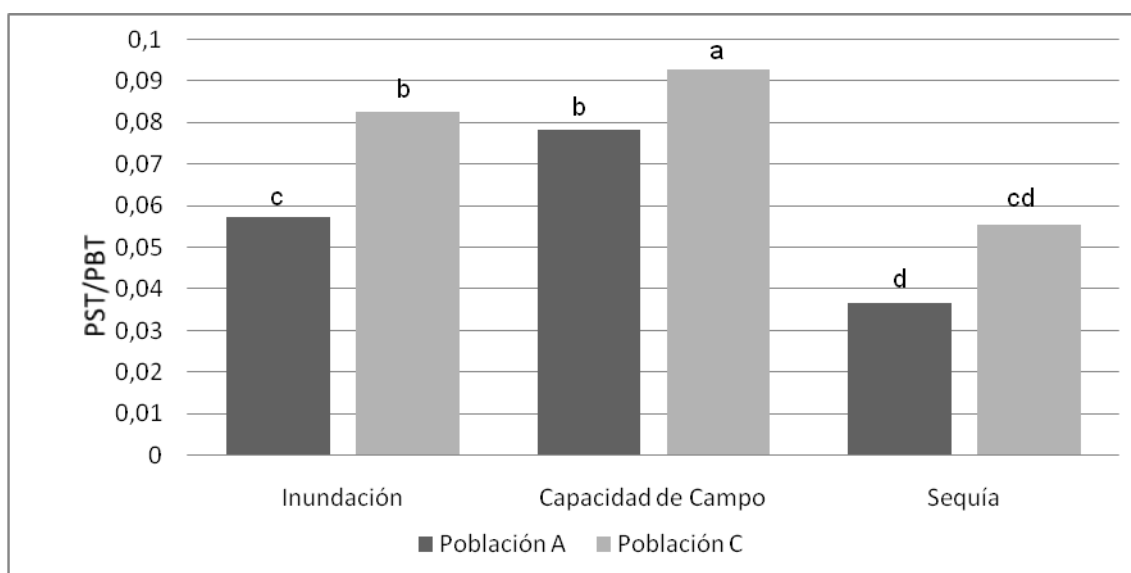


Figura 3.1: Representación gráfica del esfuerzo reproductivo (peso de semillas totales: peso de biomasa total) en las dos poblaciones estudiadas (A: Loma y C: Bajo) de *Paspalum dilatatum* Poir. en los tres tratamientos simulados en el invernáculo (I: Inundación, CC :Capacidad de campo, S: Sequía). Test de Fisher. LSD ($p \leq 0.05$).

En la Figura 3.2 se observan las diferencias significativas ($p \leq 0.025795$) de la relación entre el PBA/PST (costo reproductivo). La interacción se explica principalmente porque en los tratamientos de Inundación y capacidad de campo la Loma muestra diferencias significativas respecto de la población del Bajo. En el tratamiento de Sequía no se diferencian las poblaciones. En las plantas de la población de Bajo el tratamiento de Inundación y Capacidad de Campo presentaron el menor valor de costo reproductivo,

esto significaría que un gramo de semilla producida para las plantas de esta población en los dos tratamientos (I y CC) tendrían una menor inversión en Carbono respecto de las del tratamiento de Sequía. Esto significaría un costo menor o una reducción menor del crecimiento aéreo de la planta como consecuencia del evento reproductivo en términos relativos para estos tratamientos (I y CC).

Figura 3.2:

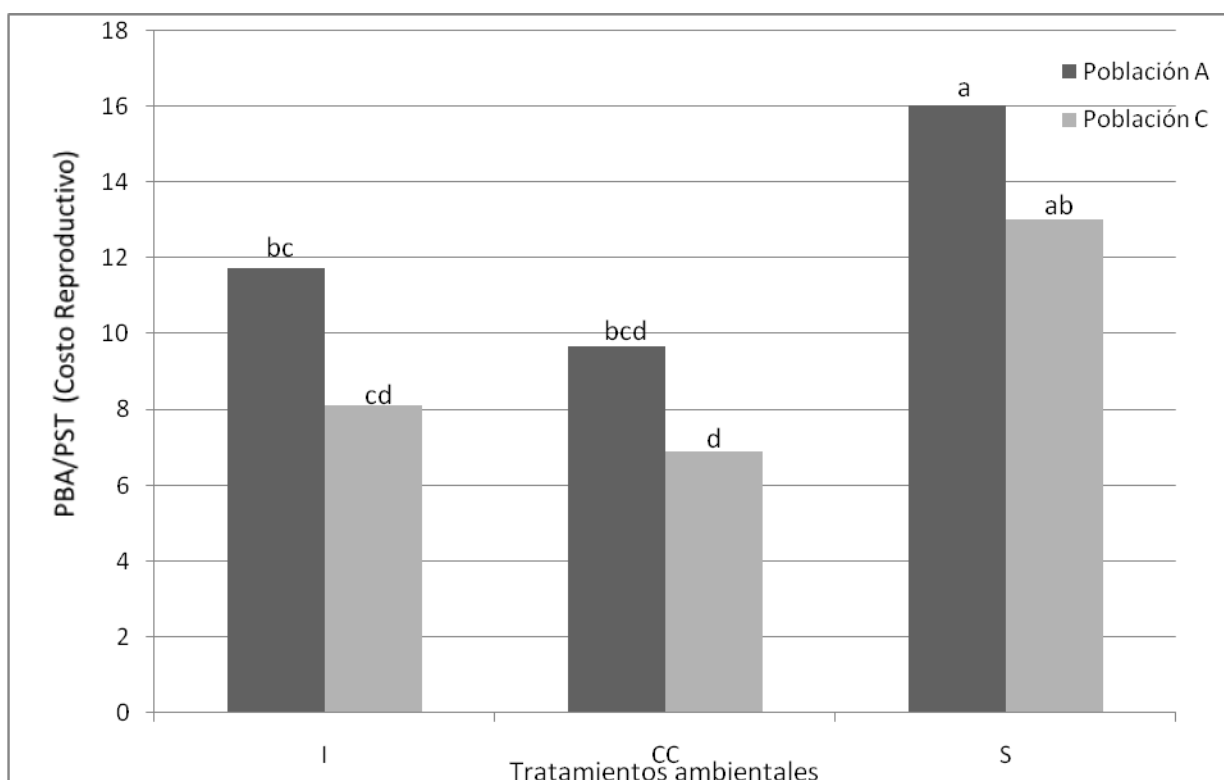


Figura 3.2: Representación gráfica de la relación PBA/PST (costo reproductivo) en las dos poblaciones estudiadas (A: Loma y C: Bajo) de *Paspalum dilatatum* Poir. en los tres tratamientos simulados en el invernáculo (I: Inundación, CC: Capacidad de campo, S: Sequía). Las diferencias son significativas. Test de Fisher. LSD ($p \leq 0.05$).

El valor biológico de este resultado, permite rescatar las diferencias entre poblaciones más allá de las diferencias halladas en el análisis de los factores principales en variables relacionadas, ya que si bien el PBA no mostró diferencias significativas en el MANOVA, el PBT y el P semillas totales y llenas, mostraron ser afectados significativamente por los tratamientos de disponibilidad hídrica. Las figuras 3.3 y 3.4, muestran el efecto exaltador

de la disponibilidad hídrica (CC e I) sobre el PBT y el P Semillas Totales y llenas, y el efecto depresor sobre las mismas variables cuando se trata de Sequía.

Figura 3.3:

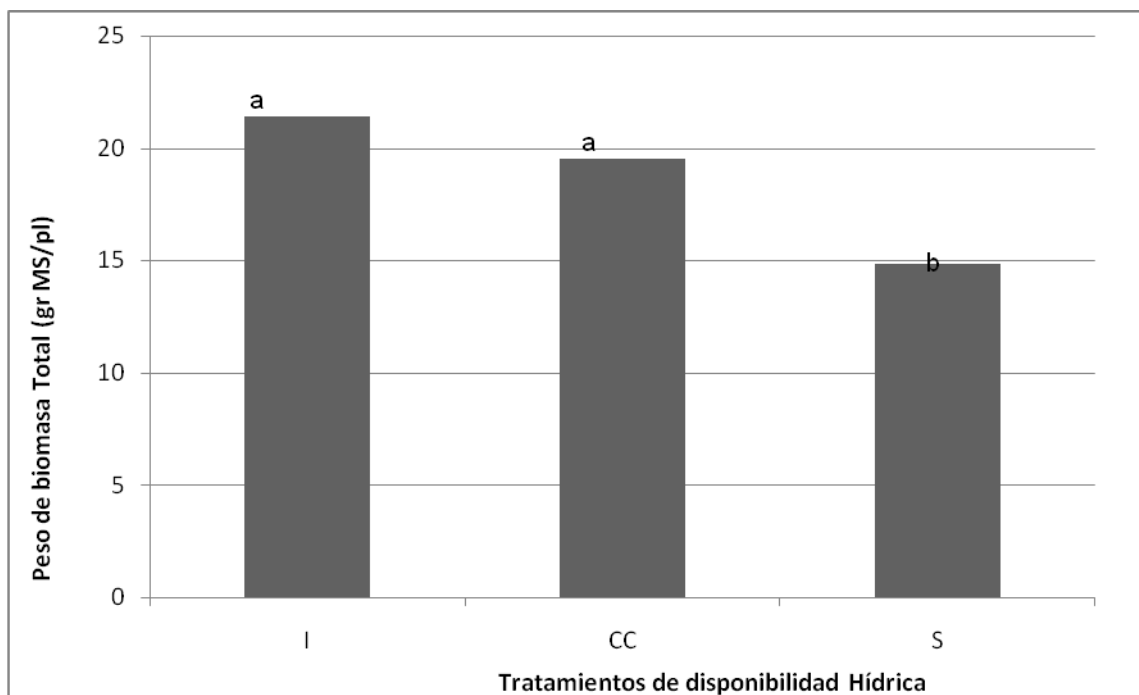


Figura 3.3: Representación gráfica de la variación del peso de la biomasa total en plantas de *Paspalum dilatatum* Poir. de los tres ambientes simulados en el invernáculo (Inundación, Capacidad de campo y Sequía). Promedio de las dos poblaciones estudiadas. Test de Fisher LSD ($p \leq 0.01$).

Si bien las diferencias son significativas, el valor menor fue alcanzado por el tratamiento de Sequía, los resultados siguen también el orden decreciente de disponibilidad hídrica.

En la Figura 3.4 se aprecian las diferencias significativas del peso de semillas totales ($p \leq 0.00007$) y llenas ($p \leq 0.000001$) como resultado del efecto de los tratamientos.

Figura 3.4:

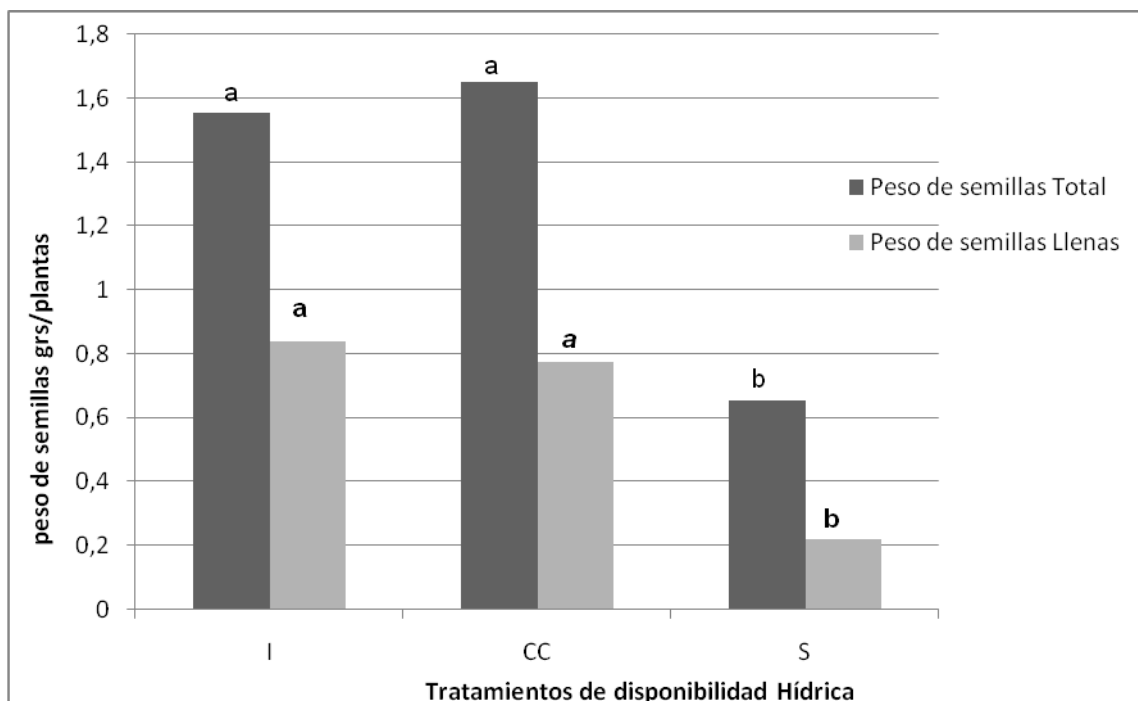


Figura 3.4: Representación gráfica del peso total de semillas total y llenas de plantas de *Paspalum dilatatum* Poir. provenientes de ambas poblaciones. Test de Fisher LSD ($p \leq 0.01$) como resultado del los tres tratamientos ambientales (Inundación, Capacidad de campo y Sequía). Las diferencias significativas indicadas por letras, se comparan entre idénticas variables. Los resultados son promedios de las dos poblaciones estudiadas.

El efecto observado en la interacción doble permite percibir que la Sequía afecta negativamente al esfuerzo reproductivo y convierte al Carbono proveniente de la parte aérea en el más costoso de los tres tratamientos, y que la población más sensible a estos cambios sería la proveniente de la Loma, aunque son necesarios más estudios para confirmarlo.

3.III.b) Cambios en la asignación de recursos en los compartimientos aéreo y radical:

Entre las fechas sucesivas relevadas de la variable N° de macollos totales, la interacción doble fue significativa para la fecha 30 de diciembre (MAC3012) ($p \leq 0.00526$). La Figura 3.5 describe el número de macollos totales registrados al 30 de diciembre (MAC3012). Las fechas anteriores no presentaron diferencias significativas por lo cual no se representan.

El tratamiento capacidad de campo mostró las mayores diferencias entre poblaciones, las plantas provenientes de la Loma (A) mostraron el mayor número de macollos registrados, mientras las provenientes del Bajo (C) presentaron un valor menor a la Loma e indiferenciado del tratamiento de Inundación. En ambas poblaciones, el tratamiento de Sequía alcanzó valores similares.

Figura 3.5:

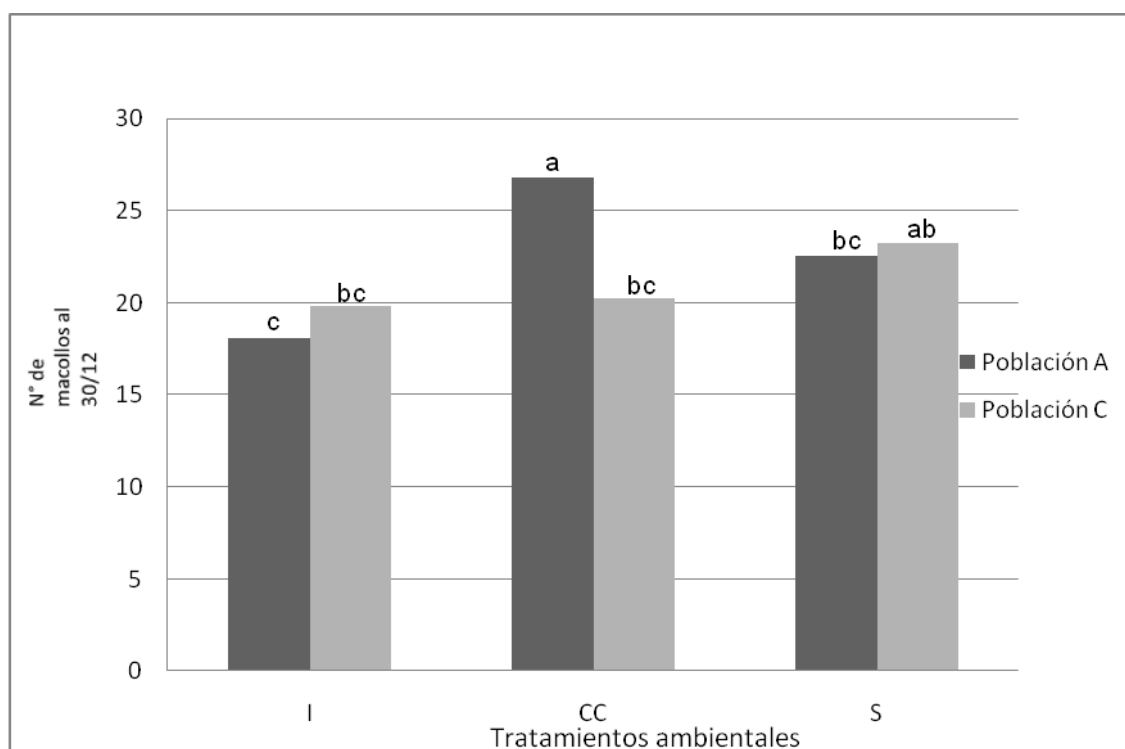


Figura 3.5: Representación gráfica de la interacción del Número de Macollos totales registrados al 30 de diciembre, en las dos poblaciones estudiadas (A: Loma y C: Bajo) de *Paspalum dilatatum* Poir. en los tres ambientes simulados en el invernáculo (I: Inundación, CC: Capacidad de campo, S: Sequía). Test de Fisher. LSD ($p \leq 0.05$).

La Figura 3.6 muestra la variación del peso de la biomasa asignada a la parte aérea por las plantas de *Paspalum dilatatum* Poir. según los tratamientos realizados expresada como promedio. Todas las diferencias mostradas son significativas ($p \leq 0.05$). La figura muestra que en ambas poblaciones se observa una modificación de la biomasa asignada a la parte aérea de la planta de acuerdo al tratamiento recibido. Las plantas de la población de Loma (A) en el tratamiento de Capacidad de campo contienen mayor cantidad de materia seca/planta comparados con los restantes tratamientos, mientras las plantas de la ambas poblaciones (A y C) en el tratamiento de Sequía produjeron plantas con menor cantidad de materia seca/planta respecto de los otros dos tratamientos. Estas plantas también mostraron mayor número de macollos al 30/12, sin embargo la diferencia que se manifiesta en número de macollos, no se manifiesta en peso de biomasa aérea, lo que indicaría que a igual peso (en biomasa aérea) en el caso de la Inundación, hay menos macollos. Se trataría de macollos más pesados, la acumulación de biomasa en el caso de la Inundación, tanto en plantas de la Loma como del Bajo, está sostenida por menor número de puntos de crecimiento, mientras en CC en la Loma está en más macollos.

Figura 3.6:

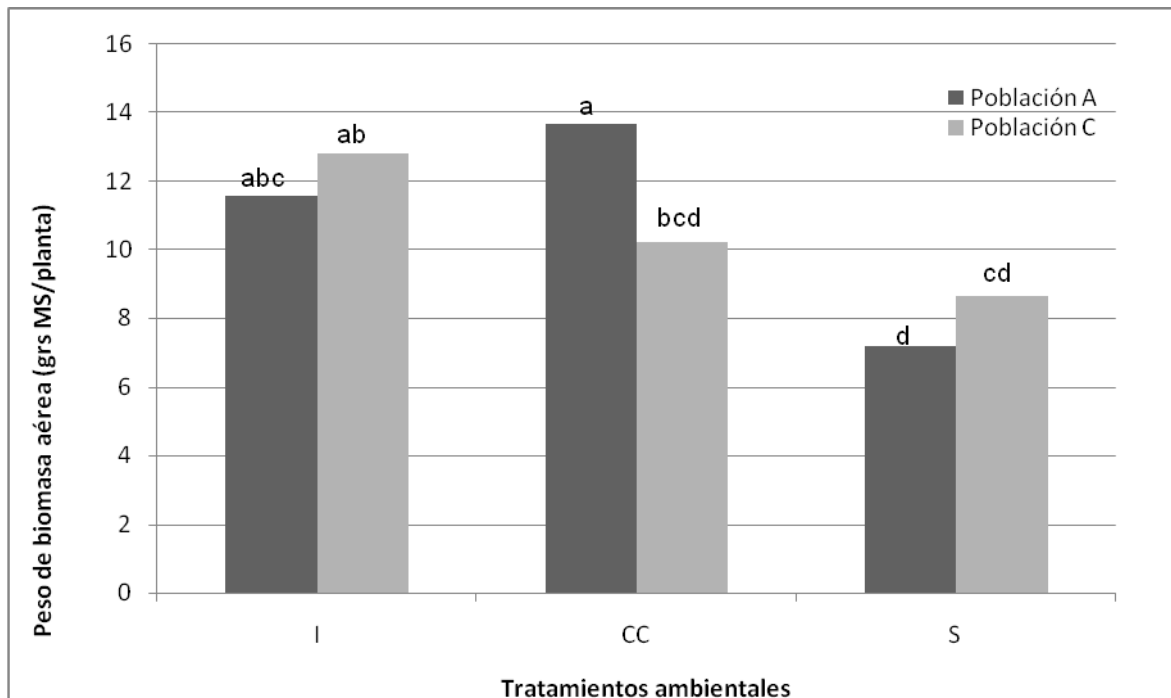


Figura 3.6: Representación gráfica de la variación del peso de la biomasa aérea en plantas de *Paspalum dilatatum* Poir. de la población de Loma (A) y Bajo (C) en los tres ambientes simulados en el invernáculo (Inundación, Capacidad de Campo y Sequía). Test de Fisher LSD ($p \leq 0.05$).

El efecto hallado sobre el peso de biomasa aérea, sólo puede ser parcialmente explicado por las diferencias en el N° de macollos reproductivos, hallados como respuesta a la disponibilidad hídrica (Fig. 3.7).

Figura 3.7:

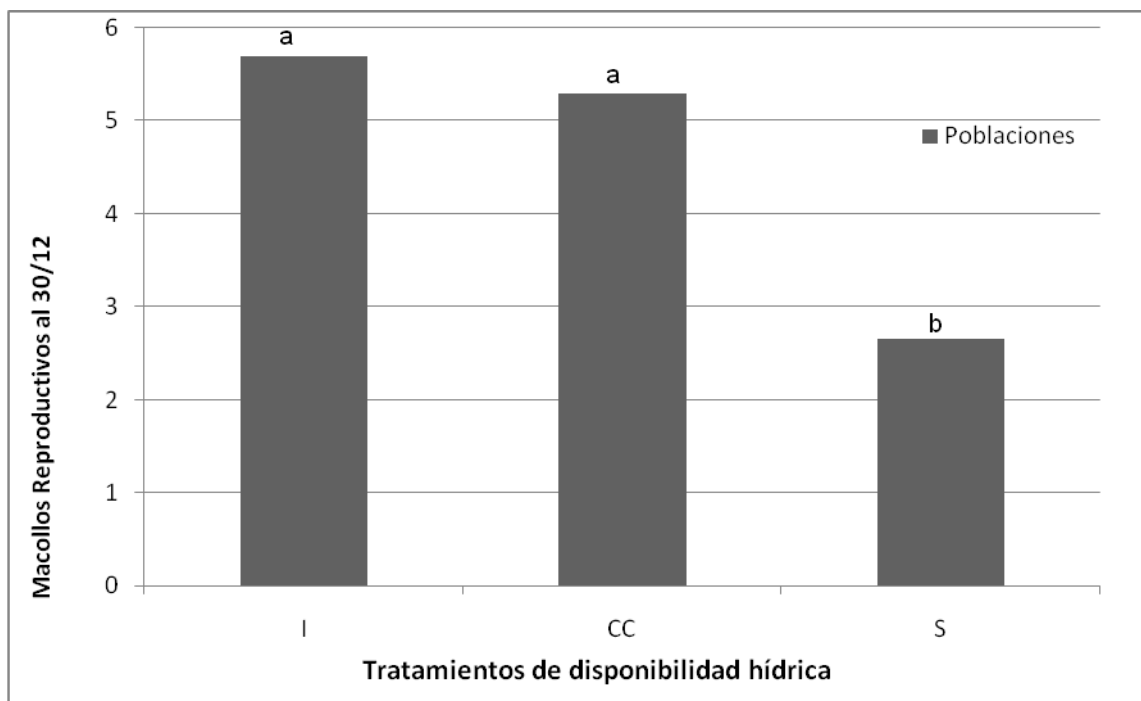


Figura 3.7: Representación gráfica de la producción del Número de Macollos reproductivos registrados al 30 de diciembre, de *Paspalum dilatatum* Poir. en los tres ambientes simulados en el invernáculo (Inundación, Capacidad de campo, Sequía), promedio de las dos poblaciones (A y C). Test de Fisher LSD ($p \leq 0.05$)

En la relación RE30: Macollos Reproductivos/macollos totales al 30/12, se observa el efecto marcado de la disponibilidad hídrica, la Inundación muestra el coeficiente mayor de los tres ambientes (I, CC,S) (Fig. 3.8). La Sequía produjo el menor coeficiente, está relacionado con el mayor costo reproductivo que genera este tratamiento.

Figura 3.8

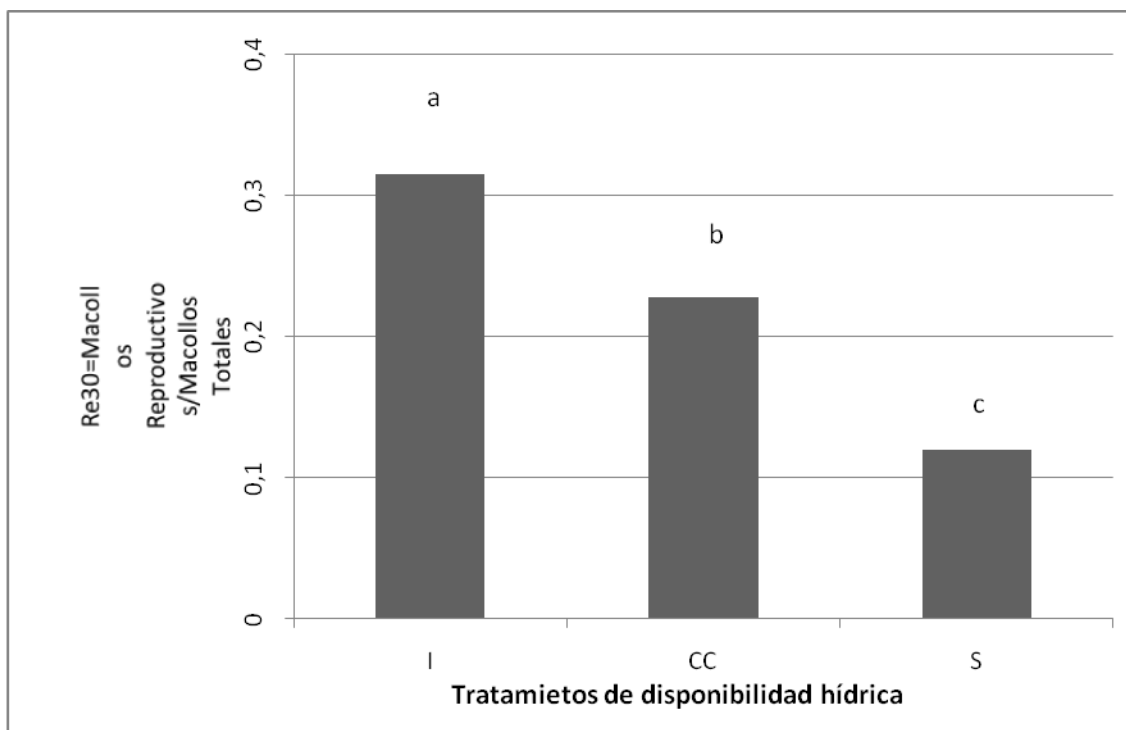


Figura 3.8: Representación gráfica de Relación RE30, de *Paspalum dilatatum* Poir. en los tres ambientes simulados en el invernáculo (Inundación, capacidad de campo y Sequía). Promedio de las dos poblaciones estudiadas Test de Fisher LSD ($p \leq 0.05$)

La relación Biomasa aérea: biomasa radical (T/R), mostrada en la Figura 3.9 presentó la interacción significativa y diferencias significativas muy marcadas para la población de Loma que mostró una mayor asignación a la parte aérea cuando las plantas vegetan en ambiente en capacidad de campo. Mientras en los otros dos tratamientos, Inundación y Sequía, es mayor la asignación a raíz. Las plantas provenientes de la población de Bajo (C), presentan una respuesta con mínimas diferencias significativas en Inundación, en los tratamientos de capacidad de campo y Sequía.

Figura 3.9

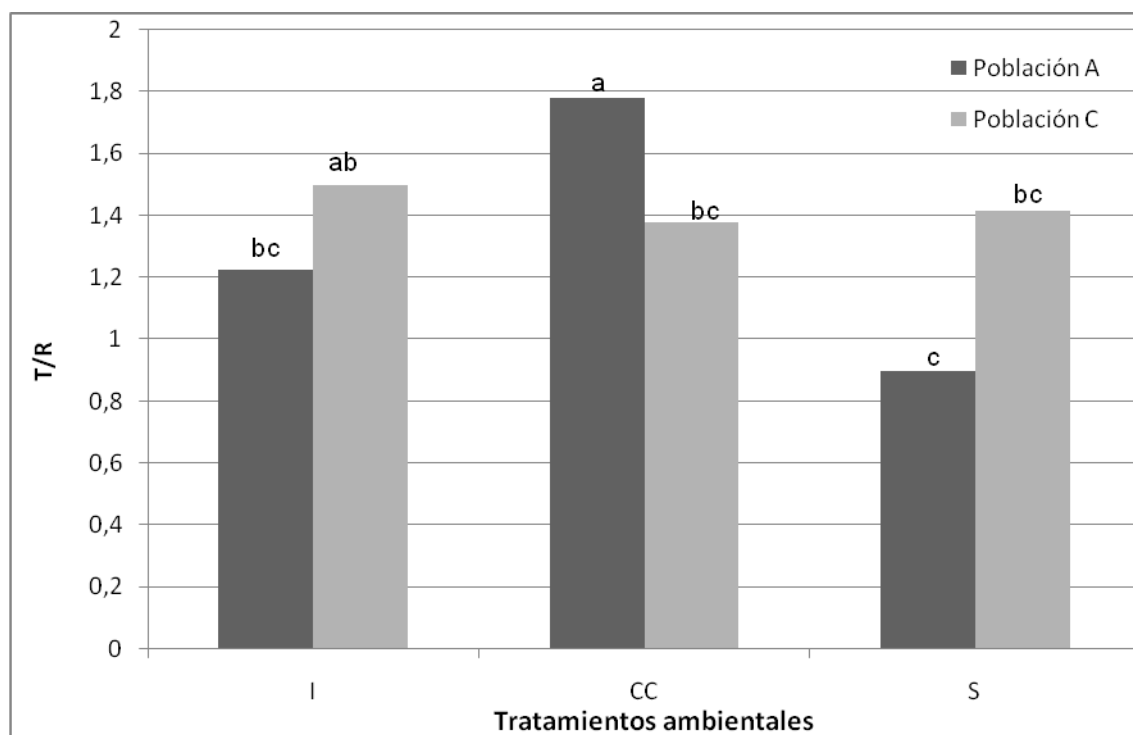


Figura 3.9: Representación gráfica de la variación de la relación biomasa aérea: biomasa radical (T/R) en plantas de *Paspalum dilatatum* Poir. de la población de Loma (A) y Bajo (C) en los tres ambientes simulados en el invernáculo (Inundación, capacidad de campo y Sequía). Test de Fisher LSD ($p \leq 0.05$).

Los tratamientos ambientales mostraron efecto sobre el Peso de Biomasa radical, solo cuando se trata de Inundación. En la Figura 3.10 puede observarse que el tratamiento de Inundación produjo plantas con mayor cantidad de materia seca asignada a la raíz, en ambas poblaciones.

Figura 3.10:

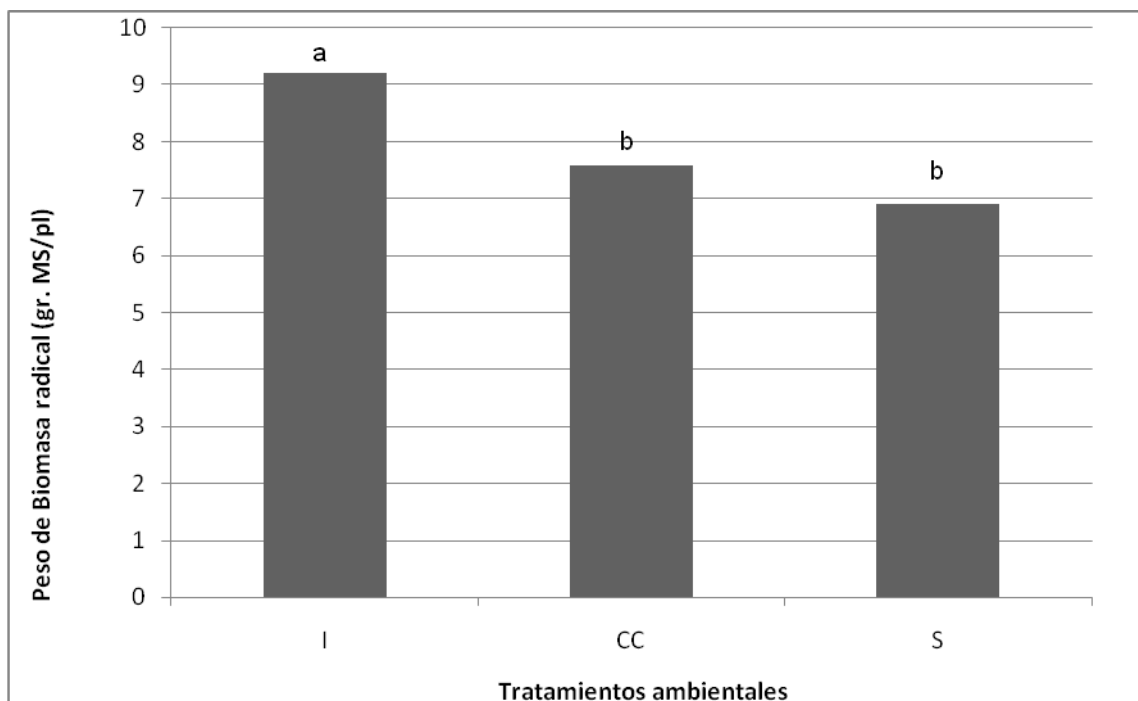


Figura 3.10: Representación gráfica de la variación del peso de la biomasa radical en plantas de *Paspalum dilatatum* Poir. de los tres ambientes simulados en el invernáculo (Inundación, capacidad de campo y Sequía). Promedio de las dos poblaciones estudiadas (A y C). Test de Fisher LSD ($p \leq 0.01$).

Las plantas provenientes del Bajo mostraron el menor peso de biomasa radical.

Figura 3.11:

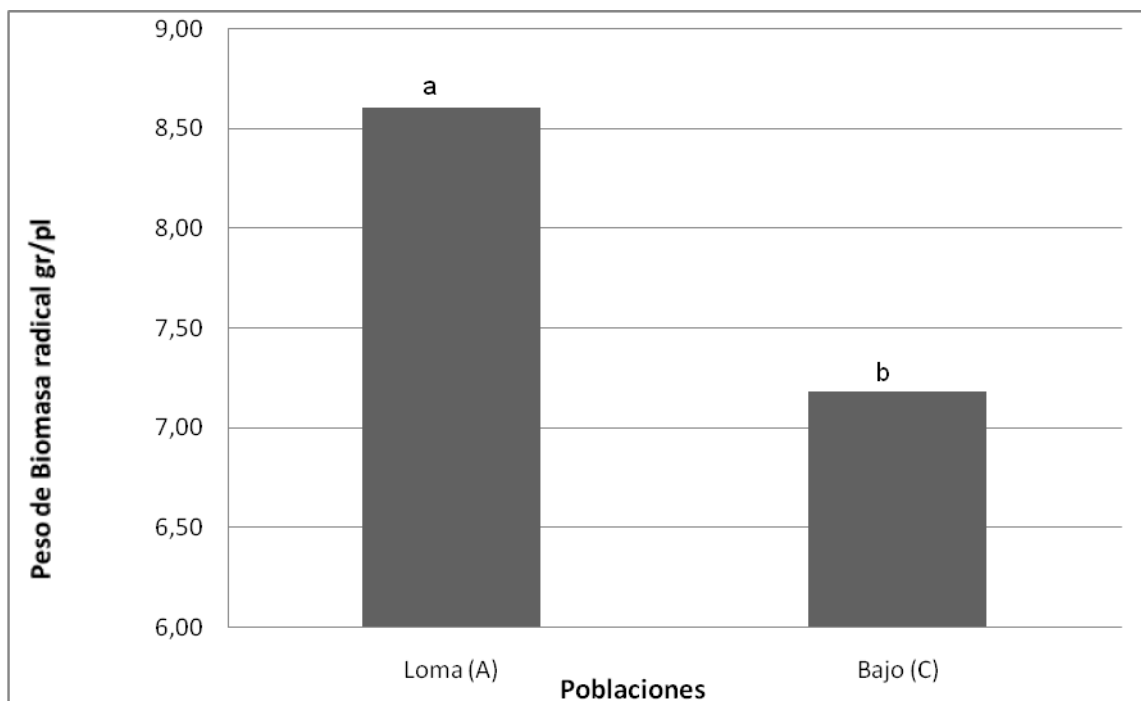


Figura 3:11: Representación gráfica del peso de biomasa radical de *Paspalum dilatatum* Poir de las dos poblaciones estudiadas (A: Loma y C: Bajo) para los tres tratamientos (Inundación, Capacidad de campo y Sequía). Promedio de dos poblaciones. Diferencias significativas ($p \leq 0,000915$).

3. IV.Discusión:

3.IV.a. Esfuerzo reproductivo:

La variación poblacional hallada en Esfuerzo Reproductivo (ER) en el presente estudio respecto de los tratamientos de disponibilidad hídrica sumada a la correspondiente en costo reproductivo marca un grado de especialización en las poblaciones de plantas analizadas (Fig.3.1 y 3.2). Dado que las diferencias son significativas para las poblaciones podemos asumir que se trata de variaciones genéticas.

Algunos modelos teóricos (Reekie y Bazzaz, 1987a) de análisis del “fitness”, que contemplan la historia de vida de los individuos, predicen que en ambientes en los que la mortalidad de adultos es relativamente alta respecto de los individuos juveniles, el esfuerzo reproductivo de las plantas será mayor, mientras en los ambientes donde la mortalidad de juveniles sea mayor el esfuerzo será menor.

Las plantas provenientes de la Loma (A) en todos los tratamientos tuvieron un menor ER y un mayor Costo Reproductivo (CR) en todos los tratamientos menos en Sequía, respecto de las del Bajo (C). Las poblaciones de Loma, están situadas en suelos profundos sin riesgo de Inundación (León, 1975). Es posible considerar que debido a la historia de vida de las plantas de las poblaciones de Bajo, sujetas a una frecuencia más alta de catástrofes (Inundación) (Insausti et al., 1995), estas respondan mostrando mayores esfuerzos reproductivos en casi todas las condiciones. Por otra parte la mayor diferencia en el tratamiento de Inundación podría estar indicando que la población de la Loma percibe el ambiente inundado con un mayor nivel de stress y su respuesta es asignar relativamente menos recursos a reproducción en condiciones de Inundación (<ER, Fig.3.1)

Ampliando el análisis a la perspectiva propuesta por Stearns (1992), dos individuos pueden asignar la misma cantidad de recursos a la reproducción en términos relativos a su tamaño pero diferir en la cantidad absoluta de energía capturada o en el momento en el que esta es capturada y modificar así su “fitness”.

Al complementar esta mirada con los datos de asignación a macollos totales y vegetativos, aparece claramente que la población de Loma (A) aumenta la producción de macollos totales, en un ambiente más cercano al óptimo (Capacidad de campo) en esta situación aumenta la posibilidad de captura de Carbono, manteniendo la asignación a macollos reproductivos. Esto resulta en una menor asignación relativa de recursos a reproducción, pero significa un aumento de los recursos de captación (macollos vegetativos, biomasa aérea) para el mantenimiento del individuo. Como los registros de macollaje finalizaron el 30/12, no es posible afirmar si más allá de este período se hubieran mantenido estas diferencias.

El tratamiento de Sequía mostró un Costo Reproductivo (CR) alto para ambas poblaciones y se diferenció de Capacidad de Campo e Inundación. La Sequía simulada produjo una reducción de la producción de semillas totales y llenas (Fig. 3.4). Una de las características de las especies perennes, como es *Paspalum dilatatum* es la reducción del componente reproductivo en momentos de Sequía (Elizalde *et al.*, 1998, Pellizzaro *et al.* 2004, Casper *et al.* 2006). Estas poblaciones (Loma y Bajo) si bien no mostraron diferencias significativas en semillas totales y llenas para los tratamientos de Inundación y capacidad de campo sí lo hicieron para Costo Reproductivo (CR). El costo mayor encontrado tanto en Inundación como en capacidad de campo de las plantas provenientes de la Loma respecto de las de Bajo, puede ser interpretado como una desventaja en el “fitness” ya que requiere invertir relativamente más carbono por cada unidad de producción de semillas para su perpetuación. Sin embargo al ser una especie de crecimiento perenne y clonal, la asignación de más recursos al macollaje (capacidad de campo) aseguraría su propagación por este mecanismo (vegetativo). En la población

de Bajo (C) el aumento de Costo Reproductivo sigue la misma tendencia que la Loma, pero es sensiblemente menor.

Estos resultados son coincidentes con los hallados por Mollard *et al.* (2010) en un experimento de trasplantes recíprocos con clones de las mismas poblaciones en los que se midió su comportamiento fisiológico, este autor halló que los clones de *P. dilatatum* provenientes del Bajo mantienen su conductancia estomática inalterada en condiciones de Inundación mientras que los clones de la Loma la reducen en un 34 % cuando se hallan en idénticas condiciones. Como consecuencia, los clones provenientes del Bajo tienen una fotosíntesis neta un 35 % mayor cuando crecen en Inundación respecto de los provenientes de la Loma.

3.IV.b. Cambios en la asignación de recursos en compartimiento aéreo y radical.

La significancia de la interacción de **Población x tratamiento** para la producción de biomasa aérea y para el resultado del Número de macollos (medidos al 30/12) contribuye aún más a sostener la hipótesis de la existencia de algún grado de especialización de las poblaciones estudiadas. Observando las Figuras 3.5 y 3.6 surge que el cambio en el número de macollos y en el peso de biomasa seca como respuesta a cambios en disponibilidad hídrica, para la población de Bajo es muy poco sensible. Sin embargo, sí afectó su desarrollo, ya que sólo el 10% produjo macollos reproductivos para ambas poblaciones en el tratamiento Sequía. La mayor asignación a compartimiento aéreo cuando existe disponibilidad hídrica es una estrategia de tomar los recursos cuando existe la oportunidad (oportunismo) (Sarmiento y Monasterio, 1983; Soriano y Sala, 1983), esta estrategia aparece claramente en la población de Loma siendo muy sensible a los cambios en disponibilidad hídrica, mientras que la población de Bajo se caracteriza por una reducida plasticidad, mostrada en biomasa aérea, macollos totales y en la relación T/R como resultado de los cambios en la disponibilidad hídrica. La biomasa asignada a raíz presentó diferencias significativas en factor

población, en dicho sentido, la población de Loma mostró una mayor producción de raíces respecto a la de Bajo. Con respecto a los tratamientos de disponibilidad hídrica el tratamiento de Inundación mostró los valores más altos de biomasa radical. De investigaciones de otros autores es conocida la capacidad de formar aerénquima en *Paspalum dilatatum* Poir. (Rubio *et al.*, 1995; Vasellati *et al.*, 2001) como consecuencia de la variación en disponibilidad hídrica que conlleva diferencias en la disponibilidad de oxígeno, asumiéndolo como una respuesta en la plasticidad de la especie para habitar en los distintos ambientes. La población de Loma fue la de mayor aporte a la raíz (Figura 3.11). Además se presenta que el tratamiento de Inundación (Figura 3.10) presenta una mayor producción de raíces. En general la Inundación reduce la asignación de biomasa a las raíces (Rubio *et al.*, 1997), también las especies más susceptibles usualmente exacerban esta respuesta (Gibberd *et al.*, 2001). Sin embargo hay especies en que la respuesta a la Inundación es producir un mayor número de raíces adventicias (Visser *et al.*, 1996; Lenssen *et al.*, 2000; Miller y Zeller, 2003), que presumiblemente permitirían a la planta compensar la pérdida del sistema radical original debido a la carencia de oxígeno (Jackson y Drew, 1984; Vartapetian y Jackson, 1997). Quizás la población de la Loma presenta como característica una mayor producción de raíces adventicias. Además habría que considerar que parte de la biomasa radical está dada por rizomas. La asignación de biomasa a rizomas se asocia a la Inundación y a la anoxia (Soukupova, 1994) y resulta coherente con el conjunto de respuestas de población de la Loma a la Inundación.

Esto suma a las características hasta aquí halladas, asignación diferencial a estructuras aéreas para estas dos poblaciones (macollos totales y biomasa aérea) sugiriendo la existencia de dos “ecotipos” de plantas de la misma especie funcionando adaptadas localmente. El funcionamiento fisiológico diferencial y en el mismo sentido que fue hallado por Mollard *et al.* (2010) apoya estos resultados, las diferencias fisiológicas en conductancia estomática, fotosíntesis neta y tasa de transpiración entre las dos poblaciones son congruentes con los resultados aquí hallados.

Respecto de las diferencias en asignación dentro de algunas variables del compartimiento aéreo, se observan diferencias entre condiciones ambientales pero no entre poblaciones, existiendo una marcada superioridad de la materia seca asignada a semillas llenas de los tratamientos de Inundación y capacidad de campo respecto del de Sequía. La biomasa asignada a semillas y estructuras florales provee una medida comparativa del rendimiento reproductivo y este es una medida crucial del “fitness” de una planta (Reekie y Bazzaz, 1987). El esfuerzo reproductivo es un aspecto fundamental en la historia de vida de un organismo, y la variación del mismo en diferentes ambientes puede ser usado como una estimación para la aptitud exitosa en dicho ambiente. En especies perennes como *Paspalum dilatatum*, la posibilidad de reproducirse por semilla permitirá la dispersión a distancia, reducir la competencia intraespecífica local y generar diversidad genética (Ott y Hartnett, 2011). En este estudio la población de Bajo mostró producir una mayor cantidad de semillas vanas, lo que significaría una mayor cantidad de destinos potenciales de asignación de carbono que fueron abortados, probablemente por falta de alguna de las condiciones, o por baja viabilidad del polen (Albinatti, 1996). Albinatti (1996) halló en la población del Bajo una muy alta susceptibilidad a *Claviceps paspali* asociada a una prolongada exposición del estigma por baja viabilidad del polen (Reusch, 1961).

La Sequía además de afectar el área foliar disminuyendo la fuente de asimilados, afecta la regulación del aborto de semillas (Zinselmeier et al., 1999; Farooq et al., 2009). Dado que fue posible probar el efecto poblacional y no el ambiental, pero se pudo observar un mayor esfuerzo reproductivo en la población de Bajo, es posible que en esta población la Sequía haya influenciado el valor de la media de semillas vanas obtenida. Si analizamos semillas totales o llenas, se observa un efecto depresor de la Sequía (Figura 3.4).

El número de macollos totales si bien fue superior para el tratamiento de Capacidad de campo en la población de la Loma e indiferente en la del Bajo, la relación Macollos Reproductivos: Macollos Totales, fue mayor para las plantas en tratamiento de

Inundación, coincidente con la mayor producción de semillas de este tratamiento. El mayor número de macollos totales observados en el tratamiento de Capacidad de campo en las plantas de la población de Loma, es acompañado por un mayor peso de Biomasa aérea, y una mayor asignación T/R para este tratamiento. En la población de Bajo, la situación fue distinta, mientras en la respuesta al gradiente hídrico el número de macollos respondió de igual modo para los tres tratamientos, el peso de la biomasa aérea fue significativamente mayor para el tratamiento de Inundación, lo que podría significar que el tratamiento Inundación produjo macollos de mayor peso seco, situación que acompañaría el mayor desarrollo de macollos reproductivos y posteriormente mayor peso de semillas. Esto podría ser un indicio del “fitness” diferente de las poblaciones habitando dichos ambientes. Teniendo en cuenta que en especies perennes la persistencia de las poblaciones está asociada al reclutamiento de nuevos macollos, a la disposición de los rizomas y en menor medida a la producción de semillas, la producción de macollos de mayor tamaño ocurrida como consecuencia del ambiente podría ser significativo para la determinación del “fitness”.

Capítulo IV

Discusión General:

El aporte de este trabajo al conocimiento de algunas de estas características es significativo ya que fueron probadas las hipótesis de existencia de variación genética como consecuencia de los ambientes que formaron a estas poblaciones. Es decir que la variación puede ser interpretada como variación adaptativa.

La hipótesis del efecto del ambiente materno sobre el comportamiento germinativo de las semillas de las poblaciones de *Paspalum dilatatum* Poir. estudiadas fue probado. También fue probado que las poblaciones responden de forma diferente a los tratamientos de incubación de las semillas y esto es más marcado de acuerdo al ambiente materno del cual provengan.

Respecto de la hipótesis planteada sobre la Inundación y la Sequía como modificadores del esfuerzo reproductivo, si bien tal y como está planteada no fue probada, la inclusión del tratamiento Capacidad de campo, a modo de testigo, permitió que no pasara desapercibida la respuesta diferencial en esfuerzo reproductivo de las plantas provenientes de la población de Loma. Del mismo modo ocurre con la hipótesis de asignación al comportamiento aéreo y radical, que si bien no fue probada, la presencia del tratamiento de capacidad de campo permitió que se hallaran las respuestas diferentes que se encontraron en las dos poblaciones.

La variación genética es una característica buscada cuando se trata de domesticar especies nativas, la falta de variación deja al mejorador sin posibilidades de avanzar con métodos de mejoramiento genético tradicionales.

La domesticación de especies requiere del conocimiento de características de la biología básica de las mismas. *Paspalum dilatatum* es una gramínea forrajera nativa

estival palatable y de calidad muy deseable de incluir en mezclas estivales. Hasta ahora una de las principales limitantes de su inclusión es entre otros, su comportamiento germinativo.

Desde el punto de vista de aplicaciones de los resultados a futuro, los mismos podrían incluirse dentro del abordaje del Manejo de Pastizales Naturales, y permitirían robustecer un modelo de predicción de repoblación descripto por Cornaglia *et al.* (2002) a partir de semillas del Pastizal Natural (Cornaglia, 2002) de las comunidades de la Depresión del Salado, adicionando al mismo las variables **origen poblacional** y **condiciones de ambiente materno**, haciéndolo más complejo y ajustado a la realidad de la variación ambiental existente.

Desde el punto de vista del mejoramiento genético, el conocimiento del comportamiento diferencial amplía las posibilidades de búsqueda para el mejorador sin dejar de mencionar que permite redefinir el ideotipo buscado. En este sentido este trabajo ha formado parte de distintos proyectos de investigación UBACYT uno titulado "Mejoramiento de Especies Forrajeras Basado en la Aplicación de Ecogenética y Tecnología Génica" dirigido por el Ing. Agr. Gustavo Schrauf y actualmente integra un proyecto PICT, "Efectos de la selección artificial sobre la variabilidad genética y la plasticidad en gramíneas nativas forrajeras: *Trichloris crinita* y *Paspalum dilatatum*" dirigido por el Dr. R. Fernández Alduncín y el Dr. G Schrauf. En el que, entre otras cosas se investiga la distancia entre cultivares seleccionados y genotipos silvestres de las especies mencionadas entre respuestas plásticas y por variabilidad genética al déficit hídrico.

Los resultados observados en Comportamiento germinativo muestran que las semillas provenientes de la población de la Loma (A) tienen menor dormición. Esto permite en primera instancia conocer que esta característica es variable a la hora de evaluar poblaciones y además tener en cuenta para un programa de mejoramiento a la población de Loma (A) como proveedora de rápida germinación.

Por otro lado el efecto materno ambiental ha sido probado como modificador de la respuesta del comportamiento germinativo en forma diferencial según sea el origen de las poblaciones. En este punto también es importante destacar que aunque existe la influencia en ambas poblaciones es de distinto sentido. Y en el marco de un programa de mejoramiento y de producción de semillas puede ser crucial tener esta información en la definición de qué fuente de germoplasma utilizar.

El resultado mostrado del efecto materno sobre las poblaciones tendrá un impacto en qué genotipos dejarán descendencia en la colonización de pastizales ante las condiciones ambientales probadas, en este caso Sequía es la de mayor condicionamiento como ambiente materno. De acuerdo a Schutte *et al.* (2008) el efecto materno ocurrido durante la maduración de plantas de *Abutilon theophrasti* provoca la alteración de la sobrevivencia de las semillas cosechadas en distintos años y enterradas en el banco de semillas. Esta respuesta es importante de igual modo a la hora de realizar una selección de genotipos para germinación rápida, dado que cambios ambientales pueden modificar la expresión esperada del fenotipo. Sin embargo de acuerdo a Wade (1998), si el ambiente materno afecta la interacción entre genes (variación genética epistática), aunque pueda tener una alta contribución al cambio evolutivo dificulta a la selección individual.

El descubrimiento de la existencia de efectos epigenéticos (Rapp y Wendel, 2005; Schmitz, 2013) realizado recientemente, le aporta a los tratamientos de ambiente materno realizados en este estudio una singular importancia, ya que permite intentar una explicación evolutiva de cómo pudo generarse esta variación y por otro lado de la persistencia del mismo por algunas generaciones, y de este modo transferirse a la descendencia. En este caso, el hecho de que las poblaciones utilizadas son apomícticas promovería que un cambio de este tipo podría ser fijado más rápidamente. Dado que la especialización ecológica está usualmente asociada con cambios correlacionados en una serie de atributos (Grime *et al.*, 1987), y sería poco productivo analizarla en uno sólo sin asociar su relación con otros, fue interés de esta maestría

explorar algunos caracteres del comportamiento vegetativo y reproductivo que pudieran conducir la búsqueda de variación. Además es sabido que las estrategias de vida pueden diferir entre organismos juveniles y adultos.

Los resultados del análisis multivariado (MANOVA) muestran que para algunos caracteres de las plantas adultas las poblaciones muestran un comportamiento diferente. Mientras para la población de Bajo la Inundación parece haber fijado mecanismos de explotación de los recursos sin causar una pérdida de carbono y por el contrario mejorar su performance, en la población de Loma el comportamiento es de una mayor sensibilidad a los cambios ambientales, pudiéndose interpretar a las modificaciones como una respuesta al estrés tanto en Sequía como en Inundación.

En este sentido utilizar como fuente de germoplasma estas poblaciones desconociendo su respuesta diferencial a la explotación de los recursos (agua en este caso) puede llevar a resultados fallidos. La población de Bajo tiene una respuesta incremental de su biomasa y caracteres asociados, a la disponibilidad hídrica, mientras la población de Loma tiene una respuesta positiva sólo cuando se trata de la disponibilidad hídrica óptima (Capacidad de campo).

En las respuestas a otro efecto principal como el origen poblacional, según posición topográfica (Loma y Bajo), respecto de la biomasa asignada a raíz también es mayor para la población de Loma, hecho que también demuestra la especialización de estas poblaciones. La posibilidad de modificar la asignación de C observado en la población de Loma, tanto a raíz como a macollaje, en determinadas condiciones de disponibilidad hídrica, es un mecanismo de aclimatación frente a situaciones variables (Chapin, 1991). Como lo sugieren otros autores, cuando la disponibilidad de agua y nutrientes es baja (Ingestad y Ågren 1991, Glynn *et al.* 2007) las plantas asignaran más C a los órganos subterráneos. Si bien a la luz de los últimos estudios es importante conocer la longitud de las raíces, la distribución diametral de raicillas y el peso (Comas *et al.*, 2013), el hecho de que haya un mayor peso radical en las plantas provenientes de la población

de Loma, acompañado por una mayor relación T/R en el tratamiento Capacidad de campo de esta población, muestra que las diferencias halladas en la relación T/R no son solamente por una reducción del crecimiento aéreo de la población de Bajo, sino por una mayor producción de biomasa radical de la población de la Loma, aunque la relación T/R no es utilizado con frecuencia en los criterios de selección (Blum, 2005), sería un criterio interesante de aplicar en esta especie.

Los comportamientos hallados tanto en comportamiento germinativo como vegetativo y reproductivo pueden ser resumidos como patrones de respuesta de la siguiente manera (Tabla 5.1):

Tabla 5.1

Estado fenológico	Poblaciones	
	A (Loma)	C (Bajo)
Semilla (comportamiento Germinativo)	<ul style="list-style-type: none"> • Menos exigente en requerimientos • Sequía: aumentan los requerimientos de pelo de agua. 	<ul style="list-style-type: none"> • Exigente en requerimientos • Sequía: el mayor grado de dormición detectable cuando no hay pelo de agua.
Planta adulta (Comportamiento Vegetativo)	<ul style="list-style-type: none"> • Mayor sensibilidad a contenidos hídricos del suelo variables. • Muy rendidora en Biomasa en Capacidad de campo. 	<ul style="list-style-type: none"> • Mayor plasticidad a contenidos hídricos del suelo variables. • Muy rendidora en Biomasa en Inundación.
Planta adulta (Comportamiento Reproductivo)	<ul style="list-style-type: none"> • Menor asignación de Recursos a estructuras reproductivas • Menor proporción de semillas vanas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Mayor asignación de Recursos a estructuras reproductivas (>ER) • Mayor proporción de semillas vanas.

Tabla 5.1: Cuadro comparativo de las respuestas de las dos poblaciones en semilla, y en planta adulta (en estado reproductivo y vegetativo).

Los resultados hallados fortalecen la importancia de la variación genética cuando se trata de domesticar especies nativas. La domesticación de especies requiere del conocimiento de características de la biología básica de las mismas y ha sido probado que también de su ecofisiología. *Paspalum dilatatum* Poir. es una gramínea forrajera nativa estival palatable y de calidad muy deseable de incluir en mezclas estivales, habitante de ambientes variables en disponibilidad hídrica. Las diferencias halladas en el comportamiento germinativo aportan nuevos aspectos al conocimiento de su bajo poder germinativo que constituye una de las limitantes principales de ésta especie a la hora de incluirla en mezclas forrajeras o aún como especie pura. El conocimiento de la sensibilidad diferencial a cambios en el ambiente materno permite restringir la base de las poblaciones selectas en un plan de mejoramiento además de incluir el comportamiento germinativo como criterio de selección.

Las variaciones en el comportamiento vegetativo y reproductivo hallados permiten proyectar posibles cambios de frecuencia de la especie de acuerdo a la población de origen, integrantes de las comunidades vegetales que habitan la Pampa Deprimida, como consecuencia de una situación poco habitual para la comunidad (Inundación para la Loma o Sequía para la del Bajo).

Capítulo V

Bibliografía

Albinati, C. (1996). "Efecto del espaciamiento entre plantas sobre la calidad de semillas de *Paspalum dilatatum* y variación interespecífica en la calidad de semillas en especies del género *Paspalum*." Tesis aprobada septiembre 1996. Cátedra de Forrajes, FAUBA.

Antonovics J. (1980). Concept of resource allocation and partitioning in plants. In: Staddon JER (ed.), Limits to Action. The Allocation of Individual Behaviour. Academic Press, NY. pp.,1-25.

Antonovics J. (1984). Genetic variation within populations. In: Dirzo, R. and Sarukhan, J. (eds.) Perspectives on plant population ecology. Sinauer, Sunderland, M.A. Pp.229-241.

Ashraf, M.(2003). Relationship between leaf gas exchange characteristics and growth of differently adapted populations of Blue panicgrass (*Panicum antidotale* Retz.) under salinity or waterlogging. Plant Science **165**: 69-75.

Benech Arnold, R.L.; M.Fennery P.J. Edwards.(1991). Effects of water stress on developing seeds of *Sorghum*. New Phytologist **118**: 339-347.

Benech Arnold, R. L (1991).The effect of parental environment on various aspects of seed biology in two species of *Sorghum*.Phd Thesis.University of Southampton.Department of Biology.

Bewley J.D y M. Black.(1985) Seeds. Physiology of development and germination.PlenumPress, New York, USA. Pp. 367.

Blanco M.A. (1993). Efecto del pastoreo y la inundación sobre el comportamiento germinativo de *Paspalum dilatatum* Poir. Trabajo de Intensificación. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

- Blanco M.A., Schrauf G.E. y V.A. Deregibus. (1995) Efecto de las condiciones de incubación y pre-incubación sobre el comportamiento germinativo de poblaciones de *Paspalum dilatatum* Poir de la Pampa Deprimida. *Ecología Austral* **5**:149-155.
- Blum. A. (2005) Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential—are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? *Australian Journal of Agricultural Research*, 2005, 56, 1159–1168
- Bradshaw A.D.(1959)Population differentiation in *Agrostis tenuis* Sibth. 1. Morphological differences. *New Phytologist* 58, 208-227.
- Bradshaw A.D. (1965). Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetic* 13:115-155.
- Bradshaw A.D. (1972). Some of the evolutionary consequences of being a plant. *Evolutionary Biology*, **5**:25-47
- Burdon, J.J (1980). Intra specific diversity in a natural population of *Trifolium repens*. *Journal of Ecology* **68**:717-736.
- Burton, Glenn W. (1939). Scarification studies on southern grass seeds. *Journal of the American Society of Agronomy*. **31**, 139-187.
- Campbell, L.R.V.(1999) *Paspalum dilatatum* and *Axonopus affinis* in Australia. vol 2: Tropical and Subtropical Species (eds. DS Loch y JE Ferguson). pp. 325-333.
- Casper, B.B., Forseth, I. N. y D. A. Wait. (2006) A Stage-Based Study of Drought Response in *Cryptantha flava* (Boraginaceae): Gas exchange, water use efficiency, and whole plant performance. *American Journal of Botany* 93(7): 977–987.
- Chaneton, E., J.M. Facelli, y R. León.(1988). Floristic changes induced by flooding on grazed and ungrazed low land grasslands in Argentina. *Journal of Range Management* **41**: 495-500.
- Chaneton E.J y R.S. Lavado. (1996). Soil Nutrients and Salinity after long-term grazing exclusion in a Flooding Pampa grassland. *Journal of Range Management* **49**:182-187.

Elandt-Johnson R.C. y N.L. Johnson.(1980). Survival models and data analysis. John Wiley & Sons: NY

Chapin, F.S. 1991. Integrated responses of plants to stress. *Bioscience* 41:29–36.

[Comas](#), L., [Becker](#), S.R., [Von Mark](#), C., Byrne, P., y [D.A. Dierig](#) (2013). Root traits contributing to plant productivity under drought. *Frontiers in Plant Science*. 2013; **4**: 442.

Cornaglia, P.S., G.E. Schrauf y V.A. Deregibus. 2009. Flooding and grazing promote germination and seedling establishment in the perennial grass *Paspalum dilatatum*. *Austral Ecology*. **34**: 343–350.

Cox D.R. y D. Oakes (1984). *Analysis of Survival Data*. New York. Chapman y Hall.

Donohue K. (2009). Completing the cycle: maternal effects as the missing link in plant life histories. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. **364**, 1059–1074.

Donohue K.; Barua D; Butler C; Tisdale T.; Chiang G.; Dittmar E; y R. Rubio de Casas. (2012). Maternal effects alter natural selection on phytochromes through seed germination. *Journal of Ecology*. **100**:750-757.

Elizalde, J. C., J. D. Cremin Jr., D. B. Faulkner, y N. R. Merchen. (1998). Performance and digestion by steers grazing tall fescue and supplemented with energy and protein. *J. Anim. Sci.* **76**:1691–1701.

Falconer, D.S. (1981). *Introduction to Quantitative Genetics*. 2nd Ed. Longman, London and New York.

Favret, E. (1980) El mejoramiento genético y la resistencia a las condiciones de stress. *Revista de la Facultad de Agronomía [Buenos Aires]*. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía [FAUBA]. Vol.1, no.1 (1980). p.13-23.

Farooq, M; Wahid, A; Kobayashi, N.; Fujita, D; y S.M.A., Basra.;.(2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development* 29: 185–212.

- Fenner, M. (1991). The effects of the parent environment on seed germinability. *Rev. Art. Seed Science Research* **1**:75-84
- Fenner, M. (1992). Environmental influences on seed size and composition. *Horticultural Review* **13**:183-212.
- Gibberd M.R., Gray J.D., Cocks P.S. y T.D. Colmer (2001). Waterlogging Tolerance Among a Diverse Range of Trifolium Accessions is Related to Root Porosity, Lateral Root Formation and 'Aerotropic Rooting'. *Annals of Botany* **88**: 579-589.
- Glynn, C. Herms, D.A; Oriana, C.M; Hansen, R.C y S. Larsson. (2007). Testing the growth-differentiation balance hypothesis: dynamic responses of willows to nutrient availability. *New Phytologist* **176**:623-634.
- Grigera G.M y M. Oesterheld. (2004). Mycorrhizal colonization patterns under contrasting grazing and topographic conditions in the Flooding Pampa. *Journal of Range Management*. **57**:601-605.
- Grime, J.P, R. Hunt y W.J. Krzanowski. (1987). *Evolutionary Physiological Ecology of Plants*. In: Calow, P. (ed). 1987. *Evolutionary Physiological Ecology* Pp: 105-125. Cambridge University Press, Cambridge.
- Grimoldi A.A, Loreti J. (2001). Caracterización del régimen hídrico de tres comunidades vegetales de los pastizales de la Pampa Deprimida. XX Reunión Argentina de Ecología. Bariloche, Río Negro.
- Grigera, G y M. Oesterheld. 2004. Mycorrhizal Colonization Patterns Under Contrasting Grazing and Topographic Conditions in the Flooding Pampa (Argentina). *Rangeland Ecology & Management* **57**(6):601-605. 2004
- Hacker, J.B (1999) *Crop Growth and Development: Grasses en Forage Seed Production vol 2: Tropical and Subtropical Species* (eds. DS Loch y JE Ferguson). Pp 41-56.
- Hald, A. (1949). Maximum likelihood estimation of the parameters of a normal distribution which is truncated at a known point. *Skandinavisk Aktuarietidskrift*. Pp.119-134.

Harper, J.L.(1977). The Population Biology of Plants. Academic Press, London. pp 839.

Herser, C.B (1988). Aspects of unconscious selection and the evolution of domesticated plants.Euphytica **37**: pp 77-81.

Heydecker, W y Coolbear, P. (1977); Seed Treatments for improved performance: Survey and attempted prognosis. Seed Science Technology **5**:353-425.

Holt 1957, E.C. (1957). "Dallisgrass" Texas Agric. Exp. Stat. Bull.**829**, 1-14.

Hook D. (1984).Adaptations to flooding with fresh water.Chapter 8.In Flooding and Plant Growth.Academic Press.

Ingestad, T. y D.I. Ågren. 1991. The influence of plant nutrition on biomass allocation. Ecol. Appl. **1**:168–174.

Insausti P., Soriano A. y R. Sánchez. (1995). Effects of flood-influenced factors on seed germination of *Ambrosia tenuifolia*. Oecologia**103**:127-132.

Jackson MB, y M. C Drew. 1984. Effects of flooding on growth and metabolism of herbaceous plants. In: Kozlowsky TT, ed. Flooding and plant growth. Orlando, Florida: Academic Press, Inc

Johnston, M. E. H.; Miller, J. G.(1964). Investigations into techniques for the germination of *Paspalum dilatatum*.Procceeding of the International Seed Test Association **29**: 145-148.

Karlsson, S. y Marcos Méndez (2005). The Resource Economy of Plant Reproduction.In Reproductive allocation in Plant, E. Reekie and F. Bazzaz. Elsevier Academic Press.

Khan, A.A., N. H. Peck, y C. Samimy.(1980-1981). Seed.Kozlowsky, T.T. Water supply and trees growth. Part II: Flooding. Forest Abs. **43** (3), 145-161.

Kelley, S.E. y Clay K. (1987). Interspecific competitive interactions and the maintenance of genotypic variation within two perennial grasses. Evolution **41**:92-103.

Kigel J. y G. Galili. (1995). Seed development and germination. Marcel Dekker, Inc. New York. 853 pp.

- Kramer, C. Y. (1956). Extension of multiple range tests to group means with unequal numbers of replications. *Biometrics* 12(3), 307-310.
- Lacey E.P. (1984).Seed mortality in *Daucuscarota* populations: latitudinal effects. *American Journal of Botany* 71:1175-1182.
- Lavado R.S. y M.A. Taboada. (1988). Water, salt and sodium dynamics in a natraquoll in Argentina. *Catena* 15:577-94.
- León, R.J.C. (1975). Las comunidades herbáceas de la región Castelli-Pila. Monogr. Com. delInvest. Cient. de la Pcia de Buenos Aires. La Plata. 5, 75-107.
- Lee, E.T. (1980). *Statistical Methods for Survival Data Analysis*. Belmont, California. Lifetime Learning Publications.
- Lenssen, J.P.M, Menting, B.F.J, Van der Putten, W. H. y C. W. P. M. Blom. (2000). Vegetative reproduction by species with different adaptations to shallow-flooded habitats. *New Phytologist*. 145, 61-70.
- Lenssen, J.P.M., Van Kleunen, M., Fischer, M. y H., De Kroon.(2004). Local adaptation of the clonal plant *Ranunculus reptans* to flooding along a small-scale gradient. *Journal of Ecology* 92, 696-706.
- Lindsey, J. C. y L.M., Ryan. (1998), Methods for interval-censored data.*Statist. Med.*, 17: 219-318.
- Loreti, J., y M. Oosterheld. (1996). Intraspecific variation in the resistance to flooding and drought in populations of *Paspalum dilatatum* from different topographic positions.*Oecologia* 108, 279-284.
- McCullagh, P., y J.A. Nelder. (1989). *Generalized linear models* (Monographs on statistics and applied probability 37). Chapman Hall, London.
- Miller, R.C. y J.B. Zeller (2003).Responses of native and invasive wetland plants to hydroperiod and water depth.*Plant Ecology* 167: 57–69, 2003.
- Mollard F., Striker G., Ploschuk E., y P. Insausti. (2010). Subtle topographical differences along a floodplain promote different plant strategies among *Paspalum dilatatum* subspecies and populations. *Austral Ecology* 35: 189-196.

- Mollard F.P.O., Insausti, P. y R. A. Sánchez.(2007). Flooding induces secondary dormancy in *Setaria parviflora* seeds. Seed Science Research. **17** (1) pp 55-62. Cambridge University Press 2007.
- Naidoo G. y S. G. Mundree. (1993). Relationship between morphological and physiological responses to waterlogging and salinity in *Sporobolus virginicus* (L.) Kunth. Oecologia **93**: 360-366.
- Ott, J. P. y D.C. Hartnett. (2011). Bud Production and dynamics of flowering and vegetative tillers in *Andropogon Gerardii* (Poacea): The role of developmental constraints. American Journal of Botany **98**(8): 1293–1298.
- Pellizzaro, G., Cesaraccio, C. Sirca, C.B. y De Dato, G.D. (2004). Mediterranean shrubland growth responses to warming and drought conditions. In: 26th Conference on Agricultural and Forest Meteorology; 13th Joint Conf. on the Applications of Air Pollution Meteorology with the Air and Waste Management Association; 16th Conf. on Biometeorology and Aerobiology; 5th Symposium on the Urban Environment, 23-26 August 2004, Vancouver, Canada. Boston, American Meteorological Society. p. 449-452.
- Pons, T.L. y H.F.J.M. Schroder (1986). Significance of temperature fluctuation and oxygen concentration for germination of the rice field weeds *Fimbristylis littoralis* and *Scirpus juncoides*. Oecologia **68**:315-319.
- Pontes O.F.S. y P.S. Martins (1982). Determinacao de parametros genéticos relacionados adormencia de sementes em soja perene (*Glycine wightii*). Parte I. O SOLO, Piracicaba, SP, **74**, 13-17.
- Rapp R.A y J.F. Wendel (2005). Epigenetics and plant evolution. New Phytologist. **168**:81-91.
- Räsänen, K y L.E.B. Kruuk. (2007). Maternal effects and evolution at ecological time-scales. Functional Ecology, 21, 407-421.
- Ray, C.B. y R. T. Stewart (1937). Germination of seeds from certain species of *Paspalum*. J. Amer. Sci. of Agr. **29**, 548-554.

- Reekie, E.G. y Bazzaz, F.A. (1987a) Reproductive effort in plants. 1. Carbon allocation to reproduction. *American Naturalist* **129**:6:876-896.
- Reekie, E.G. y Bazzaz, F.A. (1987b). Does Carbon reflect allocation of other resources?. *American Naturalist* **129**:6:897-906.
- Reekie E.G. y Bazzaz F.A. (1992). Cost of Reproduction as reduced growth in genotypes of two congeneric species with contrasting life histories. *Oecologia* **90**:21-26.
- Reusch, J.D.H. (1961). The relationship between reproductive factors and seed set in *Paspalum dilatatum*. *South African Journal of Agricultural Science*, **4**, 513–530.
- Roach, D. y R. Wulff. (1987) Maternal effects in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **18**:209-235.
- Rodriguez A.M y E.J. Jacobo. (2013) Glyphosate effects on seed bank and vegetation composition of temperate grasslands. *Applied Vegetation Science* **16** (1) (51-62)
- Rubio G., Casasola G. y R.S. Lavado. (1995) Adaptations and biomass production and soil nutrient enrichment. *Oecologia* **102**:102-105.
- Rubio G., Oosterheld M., Alvarez C.A. y R.S. Lavado (1997). Mechanisms for the increase in phosphorus uptake of waterlogged plants: soil phosphorus availability, root morphology and uptake kinetics. *Oecologia* **112**:150-155
- Sarmiento, G. y M. Monasterio. (1983). Life forms and phenology. En: Bourliere, F. (Ed). *Ecosystems of the World XIII. Tropical Savannas*, Elsevier, Amsterdam, pp. 79-108.
- Schlichting, C.D. y D.A. Levin (1988). Phenotypic plasticity in *Phlox*. I. Wild and cultivated populations of *P. drummondii*. *American Journal of Botany*. **75**:161-169.
- Schmitz, R.J, Schultz M. D., Ulrich, M. A., Nery J., Pelizzola, M., Libiger, O, Alix A., McCosh, R.B., Chen, H., Schork N J y J. R. Ecker. (2013). Patterns of population epigenomic diversity. *Nature* **495**, 193–198.

- Schrauf, G. (1994). Primeras Jornadas Nacionales de Producción de Semillas y Mejoramiento Genético de Especies Forrajeras. Primera Edición. Junio 1994.
- Schrauf, G., Cornaglia P.S., V.A. Deregibus y M.G Ríssola. (1995) a. Improvement of germination behaviour of *Paspalum dilatatum* Poir. seeds under different pre-conditioning treatments. New Zealand Journal of Agricultural Research **38**:501-509.
- Schrauf G., Blanco M.A. y V.A. Deregibus (1995b) Germination of *Paspalum dilatatum* Poir. under simulated condition of grazing and flooding. Proc. of Fifth International Rangeland Congress. Salt Lake City, Utah. USA. July 23-28. Vol. I:494-495.
- Schutte, B.R., A. S. Davis, K.A. Renner, y J. Cardina. (2008). Maternal and Burial Environment Effects on Seed Mortality of Velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) and Giant Foxtail (*Setaria faberi*). Weed Science **56**(6):834-840.
- Snaydon R.W. y M.S. Davies (1972). Rapid Population Differentiation in a mosaic environment. II. Morphological variation in *Anthoxanthum odoratum*. Evolution **26**:390-405.
- Soriano, A. (1957). La germinación como fenómeno ecológico. Ciencia e Investigación, **13**(3):100-108.
- Soriano, A. (1980). Ecofisiología del stress en las plantas. Rev. Facultad de Agronomía, **1**(1):1-12.
- Soriano, A y O. Sala (1983). Ecological strategies in a Patagonian arid steppe. Vegetatio **56**, 9-15.
- Soukupova, L. (1994) Allocation plasticity and modular structure in clonal graminoids in response to waterlogging. [Folia Geobotanica](#). **29** (2), pp 227-236.
- Stearns, S. C. (1992) The evolution of life histories. Oxford University Press, New York, New York, USA.
- Tukey, J. W. (1991). The philosophy of multiple comparisons. *Statistical Science*, 100-116.
- Thompson, K. y A.J.A, Stewart. (1981) The measurement and meaning of reproductive effort in plants. American Naturalist **117**, 205-11.

- Turkington, R. y L.W., Aarssen. (1984) Local Scale differentiation as a result of competition. Perspectives in Plant Population Ecology. (Ed. By J. Sarukhan and R. Dirzo) pp, 107-127. Sinauer Associates. Cambridge, Mass.
- Turkington, R. y J.L., Harper. (1979) The growth distribution and neighbour relationships of *Trifolium repens* in a permanent pasture. IV. Fine scale biotic differentiation. Journal of Ecology **67**:245-254.
- Van Tienderen, P.H (1992). Variation in a Population of *Plantago lanceolata* along a topographical gradient. Oikos **64**:560-572. Copenhagen 1992.
- Vartapetian, B.B. y M.B. Jackson. (1997). Plant adaptations to anaerobic stress. Annals Bot. **79**(Supplement A):3-20.
- Vasellati, V., Oosterheld M., Medán D., y J. Loretti.(2001). Effects of Flooding and Drought on the anatomy of *Paspalum dilatatum*. Annals of Botany **88**: 355-360.
- Visser, E.J.W, Blom C.W.P.M. y Voeseek L.A.C.J.(1996). Flooding-induced adventitious rooting in *Rumex*: morphology and development in an ecological perspective. Acta Botanica Neerlandica **45**:17–28.
- Voeseek, L.A.Z.J , y C.W. P. M., Bloom.(1992). Germination and emergence of *Rumex* in river flood plains. I. Timing of germination and seedbank characteristics. Acta Botanical Netherland **41**:319-329.
- Wade, M.J. (1998). The evolutionary Genetics of Maternal Effects. Chapter I. Pag.:5-21.en Maternal Effects as adaptations. Timothy A. Mousseau and Charles W. Fox. Oxford Univ. Press. 400 páginas
- Welbaum, G.E. y K.J. Bradford. (1991) Water relations of seed development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.). VI. Influence of priming on germination responses to temperature and water potential during development. Journal of Experimental Botany **42**:393–399.
- Wulff, R.D. (1985). Germination of seeds of different sizes in *Hyptis suaveolens*: the response to irradiance and mixed red-far-red sources. Canadian Journal of Botany **63**: (5) 885-888.

Zhivotovsky, L.A., M.W. Feldman, y A. Bergman (1996). On the evolution of phenotypic plasticity in a spatially heterogeneous environment. *Evolution*, **50**: 547-558.

Zinselmeier C, B.R. Jeong B.R y J.S.Boyer (1999) .Starch and the control of kernel number in maize at low water potential. *Plant Physiol* **121**: 25–35